В. А. Тутельян
Л. В. Кравченко

МИКО-ТОКСИНЫ



АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

В. А. Тутельян
Л. В. Кравченко

МИКОТОКСИНЫ

(МЕДИЦИНСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)



МОСКВА
«МЕДИЦИНА»
1985

ББК 52.84
Т 91
УДК 615.918:582.28

Рецензент: О. Б. Минскер — проф., ст. науч. сотр. Института медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е. И. Марциновского МЗ СССР.

ТУТЕЛЬЯН В. А., КРАВЧЕНКО Л. В. Микотоксины (Медицинские и биологические аспекты)/АМН СССР. — М.: Медицина, 1985, с. 320, ил.

В. А. Тутельян — доктор мед. наук, зам. директора Института питания АМН СССР, руководитель лаборатории энзимологии; Л. В. Кравченко — канд. мед. наук, ст. научн. сотр. того же института.

Монография посвящена медицинским и биологическим аспектам проблемы микотоксинов — метаболитов микроскопических грибов, загрязняющих пищевые продукты и корма, наносящих значительный экономический ущерб и представляющих реальную опасность для здоровья человека. Приведены новейшие данные об афлатоксинах, охратоксинах, трихотеценовых микотоксинах, зеараленоне, монилиформине, патулине и некоторых других микотоксинах; об особенностях их биологического действия и отдаленных эффектах; о метаболизме, молекулярных и клеточных механизмах действия. Обобщен обширный фактический материал, отражающий результаты собственных исследований авторов. Описаны алиментарные микотоксикозы человека и животных. Значительное внимание уделено вопросам контроля за загрязнением пищевых продуктов и кормов микотоксинами. Приведен справочный материал по методам обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов.

Книга предназначена для токсикологов, биохимиков, микробиологов и гигиенистов.

В книге 15 рис., 21 схема, 31 табл., список литературы — 780 названий.

For summary see page 315.

ИЗДАНИЕ ОДОБРЕНО И РЕКОМЕНДОВАНО К ПЕЧАТИ
РЕДАКЦИОННО-ИЗДАТЕЛЬСКИМ СОВЕТОМ
ПРЕЗИДИУМА АМН СССР

Т $\frac{4104030000-228}{039(01)-85}$ 37—85

ПРЕДИСЛОВИЕ

Мы являемся свидетелями бурного развития новой ветви биологии — микотоксикологии — науки о токсических метаболитах микроскопических грибов. Зародившаяся на стыке многих дисциплин — микробиологии и токсикологии, органической и биологической химии, фитопатологии и ветеринарии, патологии человека и гигиены, микотоксикология взяла на вооружение все самые современные методы, добилась значительных успехов в установлении структуры и изучении свойств большого числа микотоксинов и, что самое главное, сумела поставить свои достижения на службу охраны здоровья человека. Именно микотоксикология может служить эталоном быстрой отдачи фундаментальных разработок в практическое здравоохранение. Действительно, очень недолог путь от открытия новых микотоксинов (афлатоксинов и патулина, охратоксинов и трихотеценов и др.) до организации системы контроля за загрязнением ими пищевых продуктов и кормов, направленной на профилактику алиментарных микотоксикозов человека и сельскохозяйственных животных.

Интенсивному развитию микотоксикологии в значительной степени способствовали сформированные во многих странах мира научно-исследовательские центры, сконцентрировавшие свои усилия на решении важнейших вопросов, связанных с проблемой микотоксинов. В СССР таким центром стала лаборатория энзимологии Института питания АМН СССР, на базе которой функционируют Сотрудничающий центр ВОЗ и Международный проект ФАО-ЮНЕП-СССР по проблеме микотоксинов. Начатые под руководством акад. АМН СССР А. А. Покровского около 20 лет назад исследования по изучению биохимических механизмов действия микотоксинов, разработке методов их обнаружения, идентификации и количественного определения, успешно продолжаются представителями его школы, к числу которых принадлежат авторы этой монографии. Результаты этих исследований нашли широкое признание как у нас в стране, так и за рубежом.

Монография В. А. Тутельяна и Л. В. Кравченко является первым отечественным трудом, освещающим с современных позиций биологический и медицинский аспекты проблемы микотоксинов. В книге подробно рассматриваются вопросы биосинтеза микотоксинов микроскопическими грибами, систематизированы и обобщены основные сведения о структуре и свойствах отдельных микотоксинов, их биологическом действии, роли в патологии человека, частоте и уровнях загрязнения пищевых продуктов. Одна из ведущих идей книги — доказательство повсеместной распространенности микотоксинов и той реальной опасности, которую

они представляют для здоровья человека. Авторы справедливо уделяют большое внимание характеристике особенностей метаболизма, молекулярных и клеточных механизмов действия микотоксинов, оперируя обширным фактическим материалом, накопленным в собственных исследованиях.

При чтении монографии бросается в глаза выраженная неравномерность в подаче материала об отдельных микотоксинах, которая является отражением количества имеющихся в литературе данных: огромная информация накоплена об афлатоксинах; меньше известно об охратоксинах, трихотеценах, зеараленоне и очень мало сведений о треморгенных микотоксинах, монилиформине и др.

Знакомство представителей теоретической и практической медицины с настоящей монографией, безусловно, послужит стимулом для дальнейшего развития микотоксикологии.

Академик АМН СССР С. С. ДЕБОВ

ОТ АВТОРОВ

Авторы выражают искреннюю признательность акад. АМН СССР С. С. Дебову, акад. АМН СССР О. Г. Анджапаридзе, акад. АМН СССР Г. Н. Сердюковской и проф. О. Б. Минскеру, взявшим на себя труд ознакомиться с рукописью этой книги. Их ценные замечания помогли значительно улучшить монографию. Авторы считают своим долгом выразить благодарность акад. ВАСХНИЛ А. Х. Саркисову, члену-корр. АН УССР В. И. Билай и проф. Л. Е. Олифсону за постоянное внимание, которое они проявляют к проблеме микотоксинов, горячие дискуссии, стимулировавшие написание этой книги. Авторы признательны сотрудникам лаборатории энзимологии Института питания АМН СССР канд. хим. наук К. И. Эллеру и Л. И. Авреньевой за помощь при подготовке рукописи.

Памяти нашего учителя
Алексея Алексеевича Покровского
посвящается

Введение

Последнее десятилетие характеризуется резким усилением внимания общественности, государственных деятелей, международных организаций и ученых к вопросам охраны окружающей среды. К медицинским аспектам этой проблемы относится охрана внутренней среды человека от попадания чужеродных химических и биологических агентов [Покровский А. А., 1979]. Как известно, наиболее опасным источником вредных для организма веществ является пища. Важным интегральным критерием мер защиты пищевых продуктов, направленных на предупреждение развития патологических процессов, должны быть показатели химической чистоты внутренней среды организма человека, ее свободы от чужеродных веществ. Иными словами, как утверждал А. А. Покровский, профилактика возможного накопления чужеродных веществ, равно как и продуктов их метаболизма во внутренних средах организма, т. е. охрана чистоты внутренней среды человека, является одним из основных принципов гигиены питания и гигиенического нормирования. Человек, как и все живые организмы, не может существовать без постоянного поступления в организм многочисленных химических веществ, которые обеспечивают процессы метаболизма, пластические и энергетические потребности. Источником энергии и пластических материалов являются пищевые продукты. Следует, однако, отметить, что пища наряду с полезными для организма веществами может содержать значительное количество различных по химической структуре соединений, представляющих собой потенциальную опасность для здоровья человека.

Все химические вещества пищи с определенной степенью условности, могут быть разделены на, во-первых, собственно компоненты пищевых продуктов, т. е. вещества, специфические для определенного вида продуктов (пищевые вещества, балластные вещества, биологически активные вещества, антиалиментарные и токсические вещества); во-вторых, пищевые добавки — вещества, специально вносимые в пищевой продукт для достижения определенного технологического эффекта (красители, эмульгаторы, консерванты, антиоксиданты и др.); в-третьих, загрязнители из окружающей среды химической и биологической природы (тяжелые металлы, пестициды, нитраты, нитриты, N-нитрозамины, полихлорированные дифенилы, бактерии и бактериальные токсины и др.) [Покровский А. А., 1974, 1979; Тутельян В. А., 1983; Сидоренко Г. И., 1985]. Несомненно, что наибольшую опасность для здоровья человека представляют загрязнители пищевых продуктов, поступающие из окружающей среды, антропогенного и

природного происхождения. В ряду так называемых приоритетных загрязнителей одно из ведущих мест принадлежит ранее недостаточно оцениваемым по степени опасности для здоровья человека, широко распространенным в природе токсическим метаболитам плесневых микроскопических грибов — микотоксинам.

Хотя с токсическими свойствами микроскопических грибов человечество сталкивалось с глубокой древности, началом изучения токсинообразующих грибов можно считать середину прошлого века, когда впервые была установлена принадлежность к грибам рожков спорыньи — Claviceps purpurea, поражающих рожь в некоторые другие виды зерновых культур и вызывающих «эпидемии» заболевания, известного под названием «огонь святого Антония» или «эрготизм». Важной вехой в истории развития микотоксикологии являются исследования отечественных ученых Н. А. Пальчевского, М. С. Воронина, А. А. Ячевского, О. Е. Габрилович и других, доказавших в конце прошлого — начале этого века этиологическую роль Fusarium graminearum в развитии заболевания, возникающего при употреблении в пищу так называемого пьяного хлеба. Значительный вклад в изучение алиментарных токсикозов, вызываемых продуктами жизнедеятельности микроскопических грибов, внесли советские ученые К. И. Вертинский, В. Г. Дроботько, В. И. Билай, Н. М. Пидопличко, А. Х. Саркисов и другие, расшифровавшие в 1937—1939 гг. этиологию заболевания лошадей стахиботриотоксикозом и дендродохиотоксикозом (поражение грубых кормов Dendrodochium toxicum).

Особое внимание к проблеме микотоксикозов было привлечено в 1941—1945 гг. в связи с установлением советскими учеными А. Х. Саркисовым, П. Г. Сергиевым, В. Л. Кретовичем, Е. Н. Мишустиным, В. В. Ефремовым, Ю. И. Рубинштейн и другими этиологического значения Fusarium sporotrichiella в развитии тяжелого заболевания людей, известного под названием «алиментарной токсической алейкии».

Однако как самостоятельная отрасль науки микотоксикология стала формироваться лишь последние два десятилетия — с момента, когда были открыты афлатоксины — вторичные метаболиты широко распространенных в природе микроскопических грибов из рода Aspergillus, и обнаружены у них сильнейшие гепатотоксические и гепатоканцерогенные свойства.

В заключении этого краткого исторического экскурса мы хотели бы подчеркнуть тот весомый вклад, который внес в развитие микотоксикологии акад. АМН СССР А. А. Покровский. С его именем связан значительный прогресс в разработке медицинских и биологических аспектов проблемы микотоксинов в нашей стране. Широкое международное признание нашли его приоритетные работы по изучению биохимических механизмов действия афлатоксинов, фузариотоксинов и ряда других микотоксинов. Им впервые сформулировано представление о некоторых микотоксинах как мембранотоксинах. Под руководством А. А. Покровского были начаты систематические исследования по изучению частоты и

уровня загрязнения пищевых продуктов микотоксинами в СССР: разработаны и внедрены в практику государственного санитарного надзора методы их обнаружения, идентификации и количественного определения. Чем же обусловлен столь большой интерес специалистов различных областей знаний к проблеме микотоксинов? Во-первых, бесспорным доказательством их реальной опасности для здоровья человека; во-вторых, чрезвычайно широким, практически повсеместным распространением и, в-третьих, весьма значительными размерами наносимого ими экономического ущерба. Проблема микотоксинов вышла за рамки интересов отдельных лабораторий, научных центров и даже государств и в настоящее время находится в центре внимания таких международных организаций, как Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (ФАО), Программа ООН по окружающей среде (ЮНЕП), Международное агентство по исследованию рака (МАИР), Международный союз чистой и прикладной химии (ИЮПАК) и др.

Микотоксины отличаются высокой токсичностью, а многие из них также мутагенными, тератогенными и канцерогенными свойствами. Среди микотоксинов своими токсическими свойствами и широким распространением выделяются афлатоксины, охратоксины, трихотеценовые микотоксины, зеараленон и патулин, хотя потенциально опасными для человека являются и многие другие микотоксины. В настоящее время получены многочисленные убедительные доказательства в пользу важной роли микотоксинов в патологии животных и человека. К афлатоксинам, например, чувствительно большинство видов млекопитающих, включая приматов, птиц, рыб и других представителей животного мира. Афлатоксины оказывают выраженное гепатотоксическое и гепатоканцерогенное действие. Описаны случаи острых гепатитов у людей, в пище которых содержались афлатоксины в высоких концентрациях. Эпидемиологическими исследованиями, проведенными в ряде стран Азии и Африки, выявлена прямая корреляционная зависимость между частотой заболевания населения первичным раком печени и содержанием афлатоксинов в пищевых продуктах. Охратоксины, обладая выраженным нефротоксическим действием, являются этиологическим фактором специфического токсикоза сельскохозяйственных животных и домашней птицы — нефропатии свиней и цыплят. Выдвинута гипотеза об этиологическом значении охратоксинов в развитии заболевания людей, известного под названием балканской эндемической нефропатии. Особую опасность в связи с широким распространением в природе представляют микотоксины микроскопических грибов из рода Fusarium и в первую очередь трихотеценовые микотоксины, которые, как полагают, ответственны за развитие алиментарной токсической алейкии у людей.

Фактический материал, накопленный за последние 20 лет, позволяет сделать вывод о повсеместном распространении как про-

дуцентов микотоксинов, так и самих токсинов: афлатоксины, охратоксины, трихотеценовые микотоксины, зеараленон и некоторые другие микотоксины обнаружены в пищевых продуктах и кормах во многих странах всех континентов. Следует иметь в виду, что продуценты микотоксинов могут поражать пищевые продукты на любом этапе их производства, хранения и в домашних условиях. Они могут поражать продукты не только растительного, но и животного происхождения — при их хранении или в процессе приготовления. Микотоксины могут попадать в организм человека и через систему пищевых цепей — с молоком и тканями животных, потреблявших загрязненный микотоксинами корм.

Экономический ущерб, наносимый народному хозяйству микотоксинами, определяется не только прямыми потерями продуктов питания и кормов и резким снижением их пищевой и кормовой ценности, но и гибелью, снижением привесов и воспроизводства сельскохозяйственных животных; возрастанием их чувствительности к инфекционным заболеваниям; затратами, необходимыми на организацию системы контроля и проведение детоксикации загрязненных продуктов и кормов. По данным ФАО, ВОЗ и ЮНЕП, потери сельскохозяйственной продукции, связанные с ее заражением плесневыми грибами и загрязнением микотоксинами, в глобальном масштабе составляют для кукурузы 3%, арахиса — 4,2%, других масличных — 12%, риса — 5% и сои — 3%, что исчисляется суммой около 16 млрд. ам. долларов. Потенциальная опасность заражения плесневыми грибами и загрязнения микотоксинами существует для 1 млрд. т сельскохозяйственной продукции. Ряд факторов способствует поражению сельскохозяйственных культур микроскопическими грибами и тем самым распространению микотоксинов и микотоксикозов. К ним относятся нежелательные последствия интенсификации, механизации и химизации сельского хозяйства: культивирование высокоурожайных сортов, но с пониженной общей резистентностью; сев в ранние сроки; неправильное применение ирригации и ядохимикатов; механизированная уборка и транспортировка урожая, приводящая к повреждению зерна; нарушение условий хранения и др. В значительной степени распространению микотоксинов способствует и расширение международной торговли.

Невозможность полного предотвращения поражения сельскохозяйственных культур микроскопическими грибами — продуцентами микотоксинов заставляет отвести главную роль в профилактике микотоксикозов человека системе контроля за загрязнением пищевых продуктов микотоксинами, а также установлению безопасных их концентраций в различных пищевых продуктах и кормах. Проблема микотоксинов является многопрофильной проблемой и включает ряд аспектов:

1) медицинский (гигиенический) — установление частоты загрязнения пищевых продуктов микотоксинами в отдельных регионах и выявление возможных коррелятивных связей между

уровнем загрязнения пищевых продуктов и характером заболеваемости населения, а также установление безопасных концентраций микотоксинов в различных пищевых продуктах и кормах;

2) биологический — изучение действия микотоксинов на организмы человека и животных, обращая особое внимание на полострую и хроническую интоксикации, а также расшифровка путей метаболизма микотоксинов в организме и механизма их действия;

3) химический — установление структуры новых микотоксинов и их метаболитов, а также разработка высокочувствительных, специфичных и надежных методов обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов в различных пищевых продуктах и кормах;

4) сельскохозяйственный и ветеринарный — разработка действенных мер предупреждения поражения продовольственного сырья, пищевых продуктов и кормов микроскопическими грибами и загрязнения их микотоксинами, а также изучение реальной возможности перехода микотоксинов или их метаболитов от животных к человеку в системе пищевых цепей;

5) экономический — оценка ущерба и определение судьбы загрязненных пищевых продуктов и кормов в зависимости от содержания в них микотоксинов.

К настоящему времени достигнуты серьезные успехи в установлении химической структуры микотоксинов, изучении их физико-химических свойств, разработке методов анализа и изучения распространенности многих микотоксинов. Значительно меньше информации имеется об особенностях биогенеза, метаболизме и механизмах действия микотоксинов. Что касается роли этих веществ в патологии человека, то накопленный фактический материал явно недостаточен и некоторые представления носят в основном гипотетический характер. Есть все основания полагать, что число микотоксинов будет продолжать увеличиваться по мере изучения роли микроскопических грибов в развитии алиментарных токсикозов человека и животных с пока не выясненной этиологией.

Микотоксикология интенсивно развивается. Но, несмотря на значительный прогресс, в ней остается, по-видимому, все же больше нерешенных вопросов, чем решенных. Привлечение внимания широкой группы специалистов к этой проблеме, несомненно, будет способствовать ее успешному решению.

Глава I

Микотоксины: современные представления, биосинтез

Микотоксины (от греческого mykēs — гриб и toxicon — яд) — это вторичные метаболиты микроскопических грибов (плесеней), обладающие выраженными токсическими свойствами, т. е. метаболиты, не являющиеся эссенциальными для роста и развития продуцирующих их микроорганизмов. В настоящее время известно около 250 видов различных микроскопических грибов, продуцирующих более 100 токсичных метаболитов. Какова роль микотоксинов в жизнедеятельности микроскопических грибов? Есть все основания полагать, что эти вторичные метаболиты могут выполнять многочисленные функции, направленные на обеспечение выживания микроскопических грибов и их конкурентоспособности в борьбе за место в различных экологических нишах [Bennett J., Ciegler A., 1983; Ciegler A., 1983]. Они могут выполнять, в частности, роль антибиотиков, химических сигнализирующих агентов или веществ, индуцирующих мутагенез. Усиленное образование микотоксинов является, по-видимому, свидетельством нарушения существующего равновесия между микроскопическими грибами и окружающей средой, например, растениями, на которых они развиваются, или насекомыми-симбионтами. В период экологической стабильности генетическая информация о токсичных вторичных метаболитах находится в состоянии репрессии и лишь при нарушении равновесия экосистемы включаются механизмы биосинтеза микотоксинов [Lillehoj E., 1982]. Какими бы ни были причины образования микотоксинов, они нас интересуют прежде всего как особо опасные природные загрязнители пищевых продуктов и кормов. В табл. 1 сделана попытка суммировать некоторые основные сведения о микотоксинах.

Даже из столь сжатой сводки совершенно очевидно, что продуцентами микотоксинов являются многие виды микроскопических грибов, и весьма разнообразные сельскохозяйственные культуры могут служить природными субстратами для продуцентов микотоксинов. Хотя в характере токсического действия большинства микотоксинов имеются определенные черты специфичности, микотоксикозы (за небольшим исключением) не имеют строго очерченной клинической картины. Это существенно затрудняет их диагностику, которая, как правило, основывается на обнаружении в пищевых продуктах, кормах и значительно реже в биологических жидкостях и тканях соответствующих микотоксинов. Учитывая определенную методическую сложность идентификации и определения микотоксинов, диагностика микотоксикоза часто основывается лишь на обнаружении в пищевых продуктах или

Таблица 1. **Основные сведения о микотоксинах**

Микотоксины	Основные продуценты	Природные субстраты	Характер токсического действия
	Микотоксины, продуцируемые грибами рода Aspergillus		
Афлатоксины B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2	A. flavus, A. parasiticus	Арахис, кукуруза и другие зерновые, бобовые, семена хлопчатника, различные орехи, некоторые фрукты, овощи, специи, корма	Гепатотоксическое и гепатоканцерогенное, мутагенное, тератогенное и иммунодепрессивное
Стеригматоцистин	A. versicolor, A. nidulans	Различные зерновые, кофе-бобы, сыры, корма	Гепатотоксическое, гепатоканцерогенное и мутагенное
Охратоксины A, B, C	A. ochraceus, Penicillium viridicatum	Различные зерновые, кофе-бобы, сыры, корма	Нефротоксическое, тератогенное, канцерогенное (?)
Фумитриморгины A и B	A. fumigatus	Рис, соя, кукуруза, силос	Нейротоксическое
Триптоквивалин, триптоквивалон	A. clavatus	Рис	То же
Фумитоксины A, B, C, D	A. fumigatus	Силос	» »
Территремы A и B	A. terreus	Рис	» »
Цитохалазин E	A. clavatus	То же	Повышение проницаемости сосудов, тератогенное
	Микотоксины, продуцируемые грибами рода Penicillium		
Пенитремы A, B, C, D, E	P. cyclopium, P. crustosum, P. palitans, P. puberulum	Различные зерновые, семена хлопчатника, сыры, яблоки, пастбищные травы	Нейротоксическое
Веррукулоген	P. verruculosum, P. simplicissimum, P. raistrickii	Арахис, пастбищные травы	То же

Продолжение

Микотоксины	Основные продуценты	Природные субстраты	Характер токсического действия
Янтитремы A, B, C	P. janthinellum	Пастбищные травы	Нейротоксическое
Паксиллин	P. paxilli	Пастбищные травы	» »
Лютеоскирин	P. islandicum	Рис, сорго, пшеница, бобовые, арахис, перец	Гепатотоксическое и гепатоканцерогенное
Циклохлоротин, исландитоксин	То же	То же	То же
Эритроскирин	» »	» »	Гепатотоксическое
Руголозин	P. rugulosum, P. brunneum, P. tardum	Рис	Гепатотоксическое и гепатоканцерогенное
Цитреовиридин	P. citreo-viride	То же	Нейротоксическое, кардиальная форма бери-бери (?)
Цитринин	P. citrinum, P. viridicatum, P. citreo-viride, некоторые виды Aspergillus	Рис, пшеница, ячмень, овес, рожь, некоторые фрукты	Нефротоксическое, тератогенное, коканцерогенное
Патулин	P. patulum, P. expansum, P. cyclopium, P. viridicatum, A. clavatus, A. terreus, Byssochlamys nivea	Различные фрукты, овощи и продукты их переработки (соки, пюре, джемы, компоты), корма	Нейротоксическое, мутагенное, тератогенное, канцерогенное (?)
Пенициллова кислота	P. puberulum, P. cyclopium, P. viridicatum, A. ochraceus, A. sulphureus	Кукуруза, бобовые, корма, табак	Гепатотоксическое, мутагенное, канцерогенное

PR-токсин	P. roqueforti	Ячмень, сыры, джемы, корма	Нейротоксическое, канцерогенное
Рокфортин	P. roqueforti, P. commune	Сыры, семена хлопчатника	Нейротоксическое
Микофеноловая кислота	P. roqueforti, P. viridicatum, P. stoloniferum	Сыры	Мутагенное
Циклопиазоновая кислота	P. cyclopium, P. camemberti, A. flavus, A. versicolor	Кукуруза, арахис, сыры	Нейротоксическое, канцерогенное (?)
Рубратоксины A и B	P. rubrum, P. purpurogenum	Различные зерновые, бобовые, арахис, семена подсолнечника, корма	Гепатотоксическое, мутагенное, тератогенное
Секалоновая кислота D	P. oxalicum	Различные зерновые	Поражение легких и миокарда (сердечно-легочная недостаточность), гепатотоксическое, мутагенное и тератогенное
Микотоксины, продуцируемые грибами Fusarium			
Трихотеценовые микотоксины (более 40 соединений)	F. sporotrichiella (=F. tricinctum), F. poae, F. nivale, F. equiseti, F. solani, F. culmorum, F. semitectum, S. graminearum, а также некоторые виды Trichothecium, Stachybotrys, Trichoderma, Cephalosporium, Myrothecium	Различные зерновые, корма, в том числе сено, солома	Нейротоксическое, геморрагическое, лейкопеническое, иммунодепрессивное, дерматотоксическое, тератогенное (для T-2-токсина и вомитоксина), канцерогенное (?) (для T-2-токсина и фузаренона-X)
Зеараленон	F. graminearum, F. moniliforme, F. tricinctum	Кукуруза, ячмень, пшеница, сорго, корма	Эстрогенное, тератогенное
Монилиформин	F. moniliforme	Различные зерновые	Поражение миокарда

Продолжение

Микотоксины	Основные продуценты	Природные субстраты	Характер токсического действия
Микотоксины, продуцируемые другими микроскопическими грибами			
Эрготоксины	Claviceps purpurea, Claviceps paspali	Различные зерновые, дикорастущие злаки	Нейротоксическое
Споридесмин	Pithomyces chartarum	То же	Гепатотоксическое, фотосенсибилизирующее
Альтернариол. метиловый эфир альтернариола, альтенуен, альтенуизол. альтертоксины, тенуазоновая кислота и др	Alternaria alternata, Alternaria solani, Alternaria tenuissima	Различные зерновые, семена хлопчатника, некоторые фрукты и овощи, силос, сено	Поражение сердечно-сосудистой системы, тератогенное, мутагенное, фитотоксическое
Цитохалазины A, B, C, D	Helminthosporium dematoideum, Phoma spp Metarrhizium anisophiae	Рис, просо, некоторые овощи	Повышение проницаемости сосудов, тератогенное

кормах потенциальных продуцентов микотоксинов, что, конечно, явно недостаточно и может привести к серьезным ошибкам.

Знакомство с табл. 1 позволяет выявить и ряд нерешенных проблем в микотоксикологии. Отсутствуют единая таксономия микроскопических грибов, классификация и номенклатура микотоксинов. В одних случаях в основу группового деления микотоксинов положена их химическая структура, в других — характер токсического действия, в третьих — видовая принадлежность грибов-продуцентов. Несомненно, что по мере дальнейшего накопления фактических данных, расширения знаний в области химической структуры, биологической активности и механизмов действия микотоксинов эти вопросы найдут свое решение.

Прежде чем перейти к характеристике отдельных микотоксинов, необходимо кратко остановиться на их происхождении, наиболее общих путях их биосинтеза микроскопическими грибами.

Микотоксины образуются из первичных метаболитов в результате изменения каких-либо физиологических факторов, как, например, содержания питательных веществ, соотношения микроэлементов и других факторов роста. Вопрос о взаимо-

связи между первичным и вторичным метаболизмом микроскопических грибов мало изучен. K. Maggon и соавт. (1977) при исследовании процесса образования афлатоксинов A. flavus и A. parasiticus обнаружили, что в экспоненциальной фазе роста культур, когда происходит накопление первичных метаболитов, активность ферментов, участвующих в биосинтезе вторичных метаболитов, ингибирована. Синтез же афлатоксинов происходил в стационарной фазе роста, когда был блокирован биосинтез основных макромолекул клетки — нуклеиновых кислот и белков.

Микотоксины образуются в цепи последовательных ферментных реакций из относительно небольшого числа химически простых промежуточных продуктов основного метаболизма, таких как ацетат, малонат, мевалонат и аминокислоты [Turner W., 1975; Reiss J., 1978; Steyn P., 1979, 1980; Applebaum R., Marth E., 1981]. Наиболее важными этапами биосинтеза микотоксинов являются реакции конденсации, окисления — восстановления, алкилирования и галогенизации, которые приводят к образованию весьма различных по структуре предшественников микотоксинов. Известно пять основных путей биосинтеза микотоксинов: поликетидный, характерный для афлатоксинов, стеригматоцистина, охратоксинов, патулина и др.; терпеноидный — для трихотеценовых микотоксинов; через цикл трикарбоновых кислот — для рубратоксинов; путь, в котором исходными соединениями являются аминокислоты—эргоалкалоиды, споридесмин, циклопиазоновая кислота и др.; смешанный (сочетание двух или более основных путей) — для производных циклопиазоновой кислоты.

Несомненно, что наибольший интерес представляет поликетидный путь, который является основным для биосинтеза большой группы микотоксинов. В основе его лежит линейная конденсация ацетил-CoA с тремя или более молекулами малонил-CoA с сопутствующим декарбоксилированием, но без обязательного восстановления промежуточных β-дикарбонильных систем. В зависимости от числа C_2-единиц, включенных в молекулу, микотоксины, синтезирующиеся этим путем, подразделяются на тетракетиды, пентакетиды, гексакетиды, гептакетиды, октакетиды, нонакетиды и декакетиды [по Steyn P., 1979, 1980].

Число C_2-единиц	Микотоксины
Тетракетиды	Патулин, пенициллоновая кислота
Пентакетиды	Охратоксин А, цитринин
Гексакетиды	Мальторизин
Гептакетиды	Виомеллеин, ксантомегнин
Октакетиды	Эргохромы, лютеоскирин
Нонакетиды	Зеараленон, цитохалазины, цитреовиридин
Декакетиды	Афлатоксины, стеригматоцистин

Схема 1.
Биосинтез патулина.

$H_3C-COSCoA$
$3HOOCH_2C-COSCoA$

6 Метилсалициловая кислота

м Крезол

м Оксибензиловый спирт

Гентизиновый спирт

Гентизиновый альдегид

Патулин

Рассмотрим поликетидный путь биосинтеза микотоксинов на примерах образования патулина (тетракетид), охратоксина А (пентакетид), зеараленона (нонакетид) и афлатоксинов (декакетиды). Для биосинтеза патулина (схема 1) доказана следующая последовательность метаболических превращений: из ацетата через 6-метилсалициловую кислоту, м-крезол, м-оксибензиловый спирт — в гентизиновый спирт и гентизиновый альдегид, а затем — патулин [Murphy G., Lynen F., 1975; Zamir L., 1980]. Недавно удалось установить, что процесс превращения гентизинового альдегида в патулин не является одноэтапным, а включает ряд ферментных реакций, в результате которых образуются изоэпоксидон→филлостин→неопатулин (изопатулин) и непосредственный предшественник патулина — аскладиол [Sekiguchi J. et al., 1983].

Поликетидный путь биосинтеза дигидроизокумаринового скелета охратоксина А (схема 2) был установлен P. Steyn и соавт. (1970), M. Yamazaki и соавт. (1971). До настоящего времени остается невыясненным источник атома Cl и путь его включения в молекулу охратоксина А. Зеараленон представляет собой практически немодифицированный поликетид (схема 3), образующийся путем конденсации 9 ацетатных единиц [Steele J. et al., 1974; Mirocha C. et al., 1980].

Наиболее изученным является биосинтез афлатоксинов (схема 4), все промежуточные соединения которого выделены, идентифицированы и охарактеризованы [Applebaum R., Marth E., 1981; Zamir L., Hufford K., 1981; Townsend C. et al., 1982, и др.]. Биосинтез начинается с реакции конденсации одной молекулы ацетил-CoA с 9 молекулами малонил-CoA, в результате которой образуется C_{20}-поликетид — соединение нестабильное, превращающееся в близкие по структуре норсолариновую кислоту и аверуфин. J. Bennett и соавт.

Схема 2.
Биосинтез охратоксина А.

$H_3C-COSCoA$
$4HOOCH_2C-COSCoA$

$H_3CSCH_2CH_2CHCO_2H$
NH_2
Cl^-

L-фенилаланин

3,4-Дигидро-3-метилизокумарин

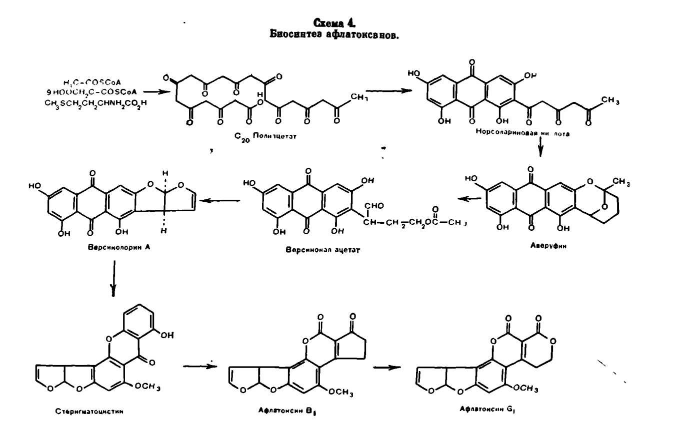
Охратоксин А

Схема 3.
Биосинтез зеараленона.

$H_3C-COSCoA$
$8HOOCH_2C-COSCoA$

C_{18} Полиацетат

Схема 4.
Биосинтез афлатоксинов.



(1980) показали, что превращение норсоларининовой кислоты в аверуфин осуществляется в два или более этапа с образованием других полигидроксиантрахинонов, один из которых был выделен и назван аверантином. Аверуфин после ряда перегруппировок превращается последовательно в версиконал-ацетат, версиколорин А, стеригматоцистин и, наконец, афлатоксин B_1. Изучение конечных стадий биосинтеза афлатоксинов A. flavus с помощью полученных биосинтетическим путем ^{14}[C]-компонентов показало, что афлатоксин B_1 в результате реакций гидроксилирования может превращаться в большинство других афлатоксинов (B_2, B_{2a}, G_1, G_2 и G_{2a}). Исключение составляет лишь афлатоксин M_1, в который не могут превращаться афлатоксины ни группы B, ни группы G. На основании этих данных J. Heathcote и соавт. (1976) предполагают, что афлатоксин M_1 является непосредственным предшественником афлатоксина B_1.

Представляют интерес данные о внутриклеточной локализации различных этапов биосинтеза афлатоксинов. Первый этап, связанный с образованием C_{20}-поликетида и полигидроксиантрахинонов, осуществляется в постмикросомной фракции мицелия. Последующие этапы (образование из аверуфина версиколорина, стеригматоцистина и афлатоксина B_1) происходят при участии ферментов, локализованных в плазматических или митохондриальных мембранах [Maggon K. et al., 1977]. Конечный этап превращения стеригматоцистина в афлатоксин B_1 осуществляется в постмитохондриальной фракции и является NADPH-зависимым [Applebaum R., Marth E., 1981]. Заслуживают внимания данные о возможном участии микросомных монооксигеназ мицелия токсигенных штаммов A. parasiticus в биотрансформации афлатоксина B_1 в другие афлатоксины [Bhatnagar R. et al., 1982].

Следует подчеркнуть, что уровень токсинообразования регулируется многими факторами, среди которых надо выделить цАМФ, макроэрги (АТФ, АДФ), липоперекиси [Gupta S. et al., 1977; Rao V. et al., 1980; Tice G., Buchanan R., 1981; Fabbri A. et al., 1983; Passi S. et al., 1984].

Терпеноидный путь биосинтеза характерен для большой группы трихотеценовых микотоксинов (схема 5). В начале цепи превращений стоит мевалонат, важным этапом является продукция фарнезилпирофосфата; образование основной циклической системы трихотеценовой молекулы происходит путем циклизации фарнезилпирофосфата — превращение в триходиен, триходиол и, наконец, 12,13-эпокситрихотецен. Последующие этерификация и гидроксилирование трихотеценового ядра приводят к образованию триходермола, веррукарола, трихотеколона и трихотецина [Evans R. et al., 1976; Tamm C., 1977; Giegler A., 1979; Mirocha C. et al., 1980]. Предполагают, что биогенез трихотеценового ядра идентичен для всех видов Trichothecium и Fusarium, однако синтез отдельных трихотеценовых микотоксинов обусловлен различиями в процессе гидроксилирования, катализируемом ферментными системами, генетически отличающимися у отдельных видов

Схема 5.
Биосинтез трихотеценовых микотоксинов.

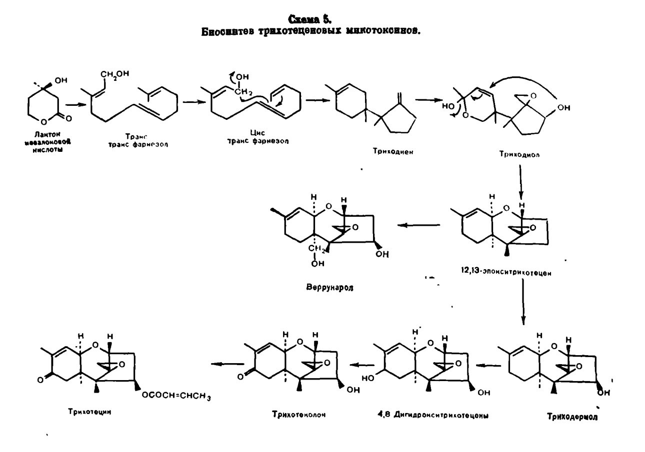


Схема 6.
Биосинтез токсинов Claviceps purpurea (эргоалкалоидов).

Триптофан + Мевалоновая кислота		
↓		
4-Диметилаллилтриптофан →	Хеноклавин I →	Агроклавин
		↓
Эрготамин	←	Элимоклавин
		↓
		Метилкарбиноламид лизергиновой кислоты

грибов [Mirocha C. et al., 1980]. Следует подчеркнуть, что биосинтез макроциклических трихотеценов, таких как веррукарины и роридины, включает дополнительный этап связывания изопреноидного остатка с поликетидом [Tamm C., 1977; Tamm C., Breitenstein W., 1980].

Путь биосинтеза с участием метаболитов цикла трикарбоновых кислот характерен для рубратоксина В. Предполагают, что образующееся из ацетил-СоА и 4 молекул малонил-СоА производное декановой кислоты, соединяясь с щавелевоуксусной кислотой превращается в так называемое C_{13}-производное. Результатом сопряженного соединения двух C_{13}-производных является образование рубратоксина В [Moss M., 1971].

Аминокислоты являются исходными соединениями в биосинтезе многих микотоксинов. Например, достаточно полно расшифрован путь биосинтеза алкалоидов Claviceps purpurea (схема 6), исходными компонентами для которых служат L-триптофан и мевалоновая кислота. Основными звеньями цепи последовательных превращений образующегося из L-триптофана и мевалоновой кислоты 4-диметилаллилтриптофана является образование хеноклавина-I, агроклавина, элимоклавина и, наконец, производных лизергиновой кислоты [Van Rensburg S., Altenkirk B., 1974; Floss H., Anderson J., 1980].

Изучение биогенеза микотоксинов — процесс исключительно сложный и трудоемкий, основанный на включении меченых первичных метаболитов (ацетата, малоната, мевалоната, аминокислот и др.) в среду инкубации культур соответствующих штаммов микроскопических грибов. Последующими этапами исследования являются выделение из культур гриба меченых вторичных метаболитов, идентификация и установление их химической структуры, расшифровка последовательности реакций биотрансформации. Несмотря на это, изучение закономерностей биосинтеза микотоксинов микроскопическими грибами следует отнести к наиболее важным и перспективным направлениям микотоксикологии. Расшифровка путей биосинтеза микотоксинов, помимо теоретического, имеет большое практическое значение, поскольку служит главным условием изыскания способов предотвращения токсинообразования микроскопическими грибами.

Глава II

Афлатоксины

Интерес, возникший к микотоксинам в период после 1960 г., явился прямым следствием вспышек заболевания неизвестной этиологии среди домашней птицы в Великобритании, Кении и Уганде и обнаружения высокой частоты гепатом у радужной форели в США. Острые формы заболевания у птиц характеризовались развитием некрозов печени и пролиферацией эпителия желчных протоков. Поиски этиологического фактора этих эпизоотий в Англии показали, что заболевание не связано с какими-либо патогенными микроорганизмами, вирусами или с наличием в корме какого-либо из известных ядов. В то же время была установлена ограниченная локализация вспышек заболевания: 80% случаев наблюдались в радиусе 80—100 миль от Лондона и были связаны с включением в корм муки из бразильского арахиса, загрязненной микроскопическими грибами Aspergillus flavus Link ex Fries [Sargeant K. et al., 1961]. В 1960 г. отмечались вспышки заболевания неинфекционной природы среди свиней и телят, также связанные с включением в корма муки из бразильского арахиса. Вскоре после выявления этого фактора были установлены и выраженные гепатоканцерогенные свойства токсичной муки [Lancaster M. et al., 1961].

Из экстрактов зараженной муки было выделено вещество, вызывающее характерную картину отравления у утят. Методом тонкослойной хроматографии его разделили на 4 компонента — B_1 в B_2, обладающие голубой флюоресценцией в ультрафиолетовом свете, и G_1 и G_2 с зеленой флюоресценцией, которые получили общее название афлатоксины — A(spergillus) fla(vus) toxins [Sargeant K. et al., 1961; Hartley R. et al., 1963]. Подстрочная нумерация при этом указывает на их относительную хроматографическую подвижность.

СТРУКТУРА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

В настоящее время семейство афлатоксинов включает, помимо 4 основных представителей (афлатоксинов B_1, B_2, G_1 и G_2), еще более 10 соединений, являющихся производными или метаболитами основной группы: афлатоксины M_1, M_2, B_{2a}, G_{2a}, GM_1, P_1, Q_1, афлатоксикол, стеригматоцистины, аспертоксин. По своей химической структуре афлатоксины являются фурокумаринами.

Абсолютная конфигурация афлатоксина B_1 была установлена в 1967 г., а в 1969 г. эта структура была подтверждена путем лабораторного синтеза [Büchi R., Rae I., 1969]. Химическое название афлатоксина B_1 в соответствии с современной номенкла-

Афлатоксин B_1

Афлатоксин B_2

Афлатоксин G_1

Афлатоксин G_2

Стеригматоцистин

Аспертоксин

Паразитикол

турой — (6aR-cis) (2, 3, 6a, 9a) тетрагидро-4-метокси-циклопента[c]фуро[3′,2′:4,5]фуро[2,3-h] [l]бензопиран-1,11-дион, а афлатоксина G_1 — (3,4,7a,10a)тетрагидро-5-метокси-1H,12H-фуро[3′,2′:4,5]фуро[2,3-h]пирано[3,4c] [l]бензопиран-1,12-дион. Афлатоксин M_1, гидроксилированное производное афлатоксина B_1, сначала был обнаружен в молоке коров, получавших корм, загрязненный афлатоксином B_1, и поэтому получил название «молочный токсин» с буквенным индексом «M» [Allcroft R., Carnaghan R., 1963]. Он встречается также как *природный метаболит* некоторых штаммов *A. flavus* и *A. parasiticus* [Ramachandra P. et al., 1975]. Афлатоксины M_2, B_{2a}, P_1, Q_1 и афлатоксикол являются продуктами гидроксилирования афлатоксина B_1, а афлатоксины G_{2a} и GM_1 — про-

дуктами гидроксилирования афлатоксина G Все они были выделены в качестве метаболитов из различных тканей экспериментальных животных, которым предварительно вводили афлатоксин B_1 или G_1 [Campbell T., Hayes J., 1976]. Афлатоксины B_{2a} и G_{2a} вырабатываются и некоторыми штаммами A. flavus [Dutton M., Heathcote J., 1967].

К семейству афлатоксинов относят также и стеригматоцистины, обладающие при тонкослойной хроматографии в отличие от афлатоксинов тусклой кирпично-красной флюоресценцией. Стеригматоцистин, О-метил-стеригматоцистин, 5-метокси-стеригматоцистин и деметил-стеригматоцистин являются природными продуктами жизнедеятельности некоторых штаммов Aspergillus и Penicillium. Аспертоксин — это производное О-метил-стеригматоцистина, он продуцируется A. flavus [Rodricks J. et al., 1968] Паразитикол, или афлатоксин B_3, является токсичным метаболитом A. parasiticus и по структуре близок к афлатоксину B_1, за исключением наличия этанольной группировки на месте терминального циклопентанового кольца [Stubblefield R. et al., 1970].

Основные физико-химические свойства афлатоксинов суммированы в табл. 2. Афлатоксины обладают способностью сильно флюоресцировать при воздействии длинноволнового ультрафиолетового излучения, что лежит в основе практически всех физико-химических методов их обнаружения и количественного определения. Эти соединения слаборастворимы в воде (10—20 мкг/мл), нерастворимы в неполярных растворителях, но легко растворимы в растворителях средней полярности таких, как хлороформ, метанол и диметилсульфоксид. Они относительно нестабильны в химически чистом виде и чувствительны к действию воздуха и света, особенно ультрафиолетового излучения. Растворы афлатоксинов в хлороформе или бензоле стабильны в течение нескольких лет при хранении в темноте и на холоде. Следует обратить внимание на то, что афлатоксины практически не разрушаются в процессе обычной технологической или кулинарной обработки загрязненных пищевых продуктов. Полное разрушение афлатоксинов может быть достигнуто лишь путем их обработки аммиаком или гипохлоритом натрия [Dollear F., 1969; Castegnaro M et al., 1980].

ПРОДУЦЕНТЫ АФЛАТОКСИНОВ И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ТОКСИНООБРАЗОВАНИЕ

В настоящее время можно считать установленным, что продуцентами афлатоксинов являются некоторые штаммы только двух видов микроскопических грибов — Aspergillus flavus Link и A. parasiticus Speare. Они могут достаточно хорошо развиваться и образовывать токсины на различных естественных субстратах (продовольственное сырье, пищевые продукты, корма) не только в странах с тропическим и субтропическим климатом, как полагали раньше, но практически повсеместно, за исключением, возможно, наиболее холодных районов Северной Европы и Канады

Таблица 2. Основные физико-химические свойства афлатоксинов [по Detroy R. et al., 1971; Mirocha C. et al., 1980]

Токсины	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Точка плавления, °С	Поглощение в ультрафиолетовой области*, ε (нм)	Флюоресценция, нм (цвет)
Афлатоксины:					
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268—269	12400 (265); 21800 (362)	425 (голубой)
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286—289	12100 (265); 24000 (362)	425 (голубой)
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244—246	9600 (265); 17700 (362)	450 (зеленый)
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237—240	8200 (265); 17700 (362)	450 (зеленый)
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299	11600 (265); 19000 (357)	425 (голубой)
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293	10900 (264); 21000 (357)	425 (голубой)
GM_1	$C_{17}H_{12}O_8$	344	276	— 12000 (358)	—
B_{2a}	$C_{17}H_{14}O_7$	330	240	10300 (256); 20400 (363)	440 (голубой)
G_{2a}	$C_{17}H_{14}O_8$	346	190	8700 (262); 18000 (363)	455 (зеленый)
P_1	$C_{16}H_{10}O_8$	298	320	11200 (267); 15400 (363)	— (желто-зеленый)
Q_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	265	11450 (267); 17500 (366)	— (желто-зеленый)
Афлатоксикол	$C_{17}H_{14}O_6$	314	230—234	— 14100 (363)	425 (голубой)
Стеригматоцистин	$C_{18}H_{12}O_6$	324	246	log ε 4,28 (208) log ε 4,44 (249) log ε 4,39 (235); log ε 4,12 (329)	— (кирпично-красный)
Аспертоксин	$C_{19}H_{14}O_7$	354	240—280	log ε 4,53 (241); log ε 4,08 (310)	
Паразитикол (B_3)	$C_{16}H_{14}O_8$	302	217	— 9700 (365)	— —

* Растворитель для афлатоксинов B_{2a}, G_{2a} и P_1 — этанол, для остальных — метанол.

[Богородицкая В. П., 1975; Болтянская Э. В., 1977; Labouche C., 1976; FAO, 1979; Mirocha C. et al., 1980; Stoloff L., 1983].

Из 4 основных представителей семейства афлатоксинов афлатоксин B_1 является наиболее токсичным и обычно синтезируется в наибольшем количестве, а афлатоксин G_2 — в наименьшем количестве. Соотношение между концентрациями отдельных афлатоксинов значительно варьирует у различных штаммов грибов-продуцентов, а также зависит от субстрата. Большинство токсигенных штаммов A. flavus продуцирует главным образом афлатоксины B_1 и G_1; ряд штаммов синтезирует все 4 афлатоксина; выделены штаммы, образующие только афлатоксин B_2 или афлатоксины B_1 и M_1 [Schroeder H., Carlton W., 1973; Ramachandra P. et al., 1975; Gunasekaran M., 1981]. Способностью вырабатывать афлатоксины обладают 20—98% штаммов A. flavus, выделенных из различных источников.

Окончательно не выяснена связь между синтезом афлатоксинов, с одной стороны, и ростом и спорообразованием грибов-продуцентов, с другой. K. K. Maggon и соавт. (1974), изучая рост и образование токсинов A. flavus и A. parasiticus на средах различного состава, показали, что афлатоксины группы B продуцируются уже на 2-е сутки роста культуры A. flavus и их синтез достигает максимума на 10-е сутки (в период наиболее выраженного спорообразования), после чего продукция токсинов быстро уменьшается. Авторы предполагают, что увеличение кислотности среды в процессе роста культуры A. flavus может приводить к гидроксилированию афлатоксинов или усилению лизиса мицелия с последующим освобождением ферментов, разрушающих афлатоксины или трансформирующих их в производные, не обладающие флюоресценцией. Прямая зависимость между ростом мицелия, спорообразованием и уровнем синтеза афлатоксинов отсутствует [Болтянская Э. В., 1979; Llewellyn G. et al., 1982; Misra R., Sinha K., 1982, Batt C., 1983].

A. flavus относится к мезофильным микроскопическим грибам и может развиваться при температуре от 6—8 °C (минимальная) до 44—46 °C (максимальная). Оптимальной для образования токсинов является температура 27—30 °C, хотя синтез афлатоксинов возможен и при значительно более низкой (12—13 °C) или высокой (40—42 °C) температуре. Температура среды влияет как на количество продуцирующихся афлатоксинов, так и на содержание и соотношение отдельных афлатоксинов [Львова Л. С. и др., 1974; Болтянская Э. В., 1977; Diener U., Davis N., 1969]. Отметим, что в условиях производственного хранения зерна (рис) максимальное образование афлатоксинов происходит при 35—45 °C, что значительно превышает температурный оптимум, установленный в лабораторных условиях [Львова Л. С. и др., 1984].

Другим критическим фактором, определяющим рост A. flavus и синтез афлатоксинов, является влажность субстрата и атмосферного воздуха. Максимальный синтез токсинов A. flavus наблюдается обычно при влажности выше 18% для субстратов, бо-

гатых крахмалом (пшеница, ячмень, рожь, овес, рис, кукуруза, сорго), и выше 9—10% для субстратов с высоким содержанием липидов (арахис, подсолнечник, семена хлопчатника, копра, различные виды орехов) при относительной влажности воздуха 97—99%. При относительной влажности атмосферного воздуха ниже 85% синтез афлатоксинов прекращается [Болтянская Э. В., 1977; Львова Л. С. и др., 1984; Diener U., Davis N., 1969; Reiss J., 1978]. Условия аэрации оказывают заметное влияние на рост и токсинообразование A. flavus при культивировании на синтетических средах. Хотя A. flavus относятся к аэробным микроорганизмам после прорастания спор продукцию небольших количеств афлатоксинов B_1 и B_2 наблюдали даже при полном отсутствии кислорода (в атмосфере азота). Незначительное количество кислорода приводило к резкому усилению синтеза афлатоксинов, в то время как добавление в среду CO_2 ингибировало их образование [Clivström G. et al., 1983]. При изучении влияния на токсинообразование светового режима были получены неоднозначные результаты. Так, N. Masimango и соавт. (1977) наблюдали снижение синтеза в культуре 4 штаммов A. flavus при инкубации в условиях полной темноты, в то время как у одного штамма образование афлатоксина B_1 подавлялось в условиях постоянной освещенности. В исследованиях J. W. Bennett и соавт. (1981), A. parasiticus синтезировал максимальное количество афлатоксинов при 30 °C в темноте, а при 20 и 25 °C — на свету; при 15° свет полностью подавлял продукцию токсинов.

При использовании синтетических и полусинтетических жидких сред для культивирования токсигенных штаммов A. flavus образование афлатоксинов в значительной степени зависит от состава среды, в частности от углеводного компонента. Синтезу афлатоксинов способствуют среды, содержащие в качестве источника углерода сахарозу, глюкозу, галактозу, сорбозу, рибозу, ксилозу, мальтозу и глицерин; в меньшей степени — фруктозу и крахмал; токсины не продуцируются на среде с лактозой. Добавление в среду дрожжевого или кукурузного экстрактов вызывает выраженное усиление синтеза афлатоксинов [Diener U., Davis N., 1969; Abdollahi A., Buchanan R., 1981; Gunasekaran M., 1981]. При частичной замене сахарозы карбоновыми кислотами максимальное образование афлатоксинов групп B и G происходило в среде, содержащей себациновую и пальмитиновую кислоты. Уксусная, пропионовая, масляная, капроновая, энантовая, каприловая, пеларгоновая, каприновая, глутаровая и линолевая кислоты подавляют рост A. parasiticus и образование афлатоксинов. Лимонная и молочная кислоты даже в незначительных концентрациях резко подавляют биосинтез афлатоксинов B_1 и G_1. Кокосовое масло, содержащее 90—95% насыщенных жирных кислот, почти в $2^1/_2$ раза повышает синтез афлатоксина B_1, в то время как сафлоровое масло, содержащее только 5% насыщенных жирных кислот, значительно ингибирует этот процесс. Предполагают, что соотношение между насыщенными и ненасыщенными жирными

кислотами, образующимися при деградации липидов природных субстратов, может существенно влиять на синтез афлатоксинов [Gupta S. et al., 1974; Reiss J., 1976; Priyadarshini E., Tulpule P., 1980].

Уровень токсинообразования зависит также от концентрации в среде некоторых металлов. В частности, доказано, что цинк в концентрации около 10 мкг/мл является эссенциальным элементом для синтеза афлатоксинов A. parasiticus, а добавление его в среду роста A. flavus стимулирует токсинообразование. В то же время при культивировании A. flavus на твердых субстратах (различные пищевые продукты) не обнаружена зависимость уровня токсинообразования от концентрации цинка в субстрате [Gupta S. et l., 1976; Obidoa O., Ndubuisi I, 1981; Rabie C. et al. 1981]. В связи с этим представляют интерес данные F. Jones и соавт. (1982, 1984) о выявлении корреляции между содержанием афлатоксинов в некоторых видах кормов и уровнем в них цинка.

S. K. Gupta и соавт. (1976) предполагают, что низкая активность ферментов гликолиза, выявленная ими в культуре A. flavus при недостаточности цинка в среде роста, приводит к снижению пула предшественников афлатоксина B_1 и лежит в основе подавления синтеза токсинов. В то же время молибден, ванадий, железо, медь, серебро, кадмий, хром, ртуть и марганец при добавлении в культуральную среду даже в низких концентрациях (до 25 мкг/мл) подавляли токсинообразование, а никель, кобальт и свинец на него существенно не влияли [Marsh P. et al., 1975; Rabie C. et al., 1981].

Изучение условий, способствующих или препятствующих росту и токсинообразованию плесневых грибов, представляется проблемой исключительно важной как для здравоохранения, так и для народного хозяйства. Многочисленные исследования посвящены характеристике процессов заражения и роста продуцентов микотоксинов на природных субстратах. При одинаковых температуре, влажности, освещенности и других условиях различные природные субстраты или даже разновидности одного и того же субстрата могут существенно отличаться по степени устойчивости к заражению A. flavus и по количеству образующихся на них афлатоксинов. В естественных условиях наиболее часто и в наибольших концентрациях афлатоксины встречаются в арахисе и кукурузе и значительно реже — в рисе или пшенице. Несомненно, большое практическое значение имеет факт выявления выраженных различий в устойчивости к заражению токсигенными штаммами A. flavus у отдельных сортов арахиса и кукурузы [Lillehoj E., 1981; Mehan V. et al., 1982]. Значительные различия в количестве образующихся афлатоксинов обнаружены при изучении токсинообразования A. flavus и A. parasiticus на арахисе 78 сортов и кукурузе 38 сортов. Только на 7 сортах арахиса и 5 — кукурузы синтез афлатоксинов был высоким — более 200 мг/кг [Tulpule P. et al., 1977]. Предполагают, что эти различия обус-

ловлены наличием генетически детерминированных особенностей структуры семенной оболочки, определяющей чувствительность или резистентность зерна к инвазии микроскопическими грибами [Dieckert M., Dieckert J., 1977], или наличием в составе субстрата специфических веществ, подавляющих синтез афлатоксинов. К таким веществам относятся, в частности, низкомолекулярный белок и β-ионон, выделенные из некоторых сортов кукурузы, разные фенолы (феруловая кислота, пирокатехин, О-ванилин, тимол), содержащиеся в различных специях, летучие компоненты масла из семян моркови (гераниол, цитрал, тирпениол), цитрусовое масло, сапонины из женьшеня, кумарины из чечевицы [Buchanan R., Shepherd A., 1981; Sihna K., Singh P., 1981; Wilson D. et al., 1981; Mabrouk S. et al., 1982; Batt C. et al., 1983; Bahk J., Marth E., 1983; El-Shayeb N., Mabrouk S., 1984]. Поиск природных веществ, селективно подавляющих синтез афлатоксинов, безусловно является одним из наиболее перспективных путей предотвращения загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов афлатоксинами.

Заслуживает внимания факт обнаружения прямой зависимости между размерами урожая орехов и степенью загрязнения их афлатоксинами [McMeans J., 1983].

Значительное влияние на рост, развитие и токсинообразование плесеней на природных субстратах может оказывать присутствие на них других видов микроскопических грибов [Diener U., Davis N., 1969; Misra R. et al., 1981]. Показано, например, что в присутствии A. niger синтез афлатоксина B_1 токсигенным штаммом A. parasiticus подавляется на 78%, а в присутствии Fusarium moniliforme, Helminthosporium maydis и Culvularia lunata — на 25—15%. В то же время Penicillium chrysogenum и Alternaria alternata не влияли на синтез афлатоксинов [Misra R. et al., 1981]. Рост A. parasiticus и синтез афлатоксинов B_1 и G_1 подавлялся также в присутствии Saccaromyces cerevisiae и Rhizopus nigricans [Weckbach L., Marth E., 1977]. Одновременное присутствие микроскопических грибов различных видов может приводить и к усилению продукции токсинов. В частности, M. O. Moss и F. Badii (1982a, b) наблюдали резкое повышение синтеза афлатоксинов B_1 и G_1 при культивировании A. parasiticus с Penicillium rubrum или с продуцируемым им токсином — рубратоксином B.

С практической точки зрения большой интерес представляют исследования длительности сохранения жизнеспособности грибов — продуцентов афлатоксинов на пищевых продуктах [Beuchat L., 1979; Hesseltine C., Rogers R., 1982]. Настораживает факт, что значительное количество жизнеспособных грибов A. flavus сохранялось даже на хорошо высушенной кукурузе, хранившейся в течение 6 лет. Афлатоксины в кукурузе, загрязненной в природных условиях, выявлялись и через 10 лет хранения. Высокая выживаемость конидий A. flavus при длительном хранении была характерна для муки (пшеничной, кукурузной и арахисовой),

что объясняют ее нейтральным pH (5,76—6,5). В продуктах же с более низкими значениями pH, как, например, желатин (pH 3,75), число жизнеспособных конидий в процессе хранения достоверно уменьшалось.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Действие афлатоксинов на животный организм может быть охарактеризовано с определенной степенью условности с двух позиций: оценка острого токсического действия и оценка отдаленных последствий.

Впервые острые алиментарные токсикозы, связанные с употреблением загрязненных афлатоксинами кормов, были описаны в 1961 г. у индюшат, утят, телят и свиней. Токсикозы отличались быстрым развитием симптомокомплекса общего отравления, высокой летальностью и значительными изменениями печени. Многократные последующие наблюдения случаев афлатоксикозов у сельскохозяйственных животных и еще более многочисленные данные по изучению экспериментальных афлатоксикозов у лабораторных животных и других представителей животного мира с большой убедительностью показали, что афлатоксины являются одними из наиболее сильных гепатотропных ядов, обладающих также выраженными канцерогенными свойствами [Allcroft R., 1969; Goldblatt L., 1969]. В настоящее время доказано, что большинство видов млекопитающих и птиц, различные виды рыб, насекомых, микроорганизмов, а также высших растений чувствительны к токсическому действию афлатоксинов.

Клиническая картина острого отравления характеризуется вялостью, отсутствием аппетита, нарушением координации движений, судорогами, парезами, нарушением функций желудочно-кишечного тракта, потерей массы тела и отставанием в развитии. Специфическими симптомами острого афлатоксикоза являются коагулопатия и множественные геморрагии, отеки, водянка полостей и в некоторых случаях развитие желтухи [Allcroft R., 1969; Butler W., 1974; Pier A., 1981].

В зависимости от чувствительности к афлатоксину B_1 (табл. 3) все виды животных можно условно разделить на три группы: I — очень чувствительные, для которых LD_{50} равна или меньше 1 мг/кг; II — чувствительные, для которых LD_{50} составляет 1—10 мг/кг и III — резистентные, которые остаются мало чувствительными даже к большим дозам афлатоксина B_1 [Schoental R., 1967]. Среди лабораторных животных мыши отличаются наибольшей резистентностью и хотя P. Newberne и W. Butler (1969) установили, что LD_{50} афлатоксина B_1 для мышей линии Swiss составляет 9 мг/кг, большинство исследователей отмечают высокую устойчивость мышей как при введении больших доз афлатоксина внутрь, так и при длительном его поступлении с кормом. A. El-Ghawas и Z. Hosny (1980), в частности, не наблюдали клинических и морфологических признаков интоксикации у мышей-самцов линии CBA при введении им внутрь афлатоксина B_1

Таблица 3. Значения LD_{50} афлатоксина B_1 для различных видов животных при однократном введении внутрь *

Вид животных	LD_{50}, мг/кг
Утята	0,34—0,56
Кролики	0,3—0,5
Радужная форель	0,5
Норки	0,5—0,6
Свиньи	0,62
Индюшата	0,5—1
Телята	0,5—1
Собаки	0,5—1
Морские свинки	1,4—2
Овцы	2
Жеребята	2
Обезьяны:	
павианы	2
макаки	7,8
Крысы:	
новорожденные	0,56
отъемыши	5,5
взрослые самцы	7,2
взрослые самки	17,9
Цыплята (порода):	
Нью Гемпшир	2
Красный Родайланд	6,3
Леггорн	6,5—16,5
Цесарки (птенцы)	3,92
Мыши	9
Хомячки	10,2
Кижуч (семейство лососевых)	5—10 (5—10 дней)

* По данным J. Halver (1969); F. Peers и C. Linsell (1976); C. Chou и соавт. (1976), G. Edds (1979), J. Le Bars и соавт. (1982).

в дозах 32 и 40 мг/кг. LD_{50} афлатоксина B_1 после однократного предварительного внутрибрюшинного введения CCl_4 составила для этой линии мышей 26,8 мг/кг. Как видно из табл. 3, утята, кролики и радужная форель высокочувствительны к афлатоксинам. Утят и радужную форель часто используют в качестве тест-объектов для обнаружения этих веществ. Для однодневных утят минимальная доза афлатоксина B_1, вызывающая характерную для острого афлатоксикоза пролиферацию эпителия желчных протоков, составляет 0,04 мг/кг [Carnaghan R. et al., 1963; Legator M., 1969].

Следует обратить внимание, что существуют выраженные различия в чувствительности к афлатоксинам не только между отдельными видами животных, но и представителями одного и того же семейства или вида. Если для радужной форели (Salmo gairdnerii) LD_{50} афлатоксина B_1 при введении в течение 5 дней составляет 0,3 мг/кг, то для кижуча (Oncorhynchus kisutch), относящегося к тому же семейству лососевых,— 5—10 мг/кг [Halver J.,

1969]; для цыплят различных пород эта величина варьирует от 2 до 16,5 мг/кг [Edds G., 1979]. J. Smith и P. Hamilton (1970) доказали, что 6 линий цыплят породы Леггорн отличались между собой по величине LD_{50} афлатоксина B_1 почти в 3 раза (от 6,5 до 16,5 мг/кг).

Токсическое действие афлатоксинов в значительной степени зависит от возраста и пола животных. Общим для всех видов животных являются уменьшение их чувствительности с возрастом и большая чувствительность взрослых самцов по сравнению со взрослыми самками. Так, у крыс-отъемышей в возрасте около 20 дней по сравнению с новорожденными особями чувствительность к токсическому действию афлатоксина B_1 снижается в 10 раз (см. табл. 3). У молодых особей радужной форели тяжелые повреждения печени появляются в более ранние сроки и при меньших, чем для взрослых, дозах афлатоксина B_1 (менее 0,1 мг/кг).

Большой интерес представляют данные о чувствительности приматов к токсическому действию афлатоксинов. В опытах на макаках резусах и обезьянах-крабоедах показано, что афлатоксин B_1 в дозе 62 мкг на 1 кг массы тела или 1,8 мг на 1 кг корма вызывает типичные для острого афлатоксикоза изменения печени, а при более высоких дозах (соответственно 1000 мкг/кг и 5 мг/кг) — быструю гибель. Характерный синдром описан у молодых самок Macaca fascicularis при введении им внутрь афлатоксина B_1 в дозе до 4,5 мг/кг. В клинической картине отравления преобладали кашель, рвота, диарея; в терминальной стадии развивалась кома. В печени при этом наблюдали центрилобулярный некроз, умеренную пролиферацию желчных протоков и массивную жировую дегенерацию, которая выявлялась также в сердце и почках. Отмечались отек головного мозга и дегенеративные изменения нервных клеток. Весьма важно, что некоторые из обнаруженных изменений напоминали симптомы, наблюдаемые у детей с синдромом Рейе [Cuthbertson W. et al., 1967; Deo M. et al., 1970; Bourgeois C. et al., 1971].

Остановимся несколько подробнее на характеристике острого афлатоксикоза у сельскохозяйственных животных. Среди них наиболее чувствительными к афлатоксинам являются свиньи в возрасте 3—12 нед и телята. Среди домашней птицы высокой чувствительностью обладают индюшата, утята и гусята; менее чувствительны перепела, фазаны и молодые цесарки; относительно резистентно к действию афлатоксинов большинство пород цыплят [Al-Allcroft R., 1969; Edds G., 1979; Arafa A. et al., 1981; Le Bars J. et al., 1982]. Например, R. Smith и соавт. (1976) выявили, что 88% зарегистрированных случаев афлатоксикоза наблюдалось у свиней, 7% — у крупного рогатого скота и 5% — у домашней птицы.

Острый афлатоксикоз у свиней, вызванный как однократным введением афлатоксина B_1 в дозе 0,2 мг на 1 кг массы тела, так и включением его в корм в различных концентрациях, характе

ризовался быстрой потерей аппетита, развитием выраженной депрессии, уменьшением привесов и появлением желтухи. LD_{50} для поросят-отъемышей составляет 0,62 мг афлатоксина B_1 на 1 кг массы тела, а доза в 1—2 мг/кг вызывает их гибель в течение первых 18—24 ч [Butler W., 1974]. О поражении печени при этом свидетельствуют значительное возрастание на ранних сроках интоксикации активности щелочной фосфатазы, аспартатаминотрансферазы и γ-глутамилтрансферазы, а также снижение концентрации общего белка в сыворотке крови [Edds G., 1979; Miller D. et al., 1981; Osuna O., Edds G., 1982]. Среди свиней, получавших загрязненный афлатоксинами корм, более часто, чем в контрольной группе, наблюдались случаи сальмонеллеза и отмечалось снижение резистентности к заражению рожей [Cysewski S. et al., 1978].

Вспышки афлатоксикозов нередко наблюдаются и среди крупного рогатого скота, особенно телят. Так, в связи с потреблением загрязненной афлатоксинами кукурузы в 1975 г. в Испании погибло 448 из 2532 телят, причем ведущим симптомом токсикоза были множественные геморрагии (Otero N., 1982). Высокий уровень загрязнения афлатоксинами кукурузы урожая 1977—1978 гг. в США явился причиной многих случаев токсикоза у молочного скота. LD_{50} афлатоксина B_1 при однократном введении для телят составляет 0,5—1 мг/кг, а при дозе 1,8 мг/кг все животные погибают. Основными клиническими симптомами афлатоксикоза у крупного рогатого скота являются остановка роста, отсутствие аппетита, нарушение функций желудочно-кишечного тракта, геморрагии, снижение надоев молока у коров. При концентрации афлатоксина B_1 в корме коров более 50 мкг/кг, несмотря на отсутствие симптомов интоксикации, в молоке могут появляться значительные количества его метаболита — афлатоксина M_1, обладающего столь же выраженными как и афлатоксин B_1 токсическими и канцерогенными свойствами. При содержании в корме афлатоксина B_1 в концентрации, например, 20 или 50 мкг/кг уровень афлатоксина M_1 в молоке достигает соответственно 0,52 и 1,58 мкг/л, что представляет определенную опасность для здоровья человека [Allcroft R., 1969; Kong Z., 1982]. Также как у свиней, острый афлатоксикоз у крупного рогатого скота сопровождается выраженной гиперферментемией (увеличением в сыворотке крови активности аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и γ-глутамилтрансферазы), указывающей на поражение печени и нарушение гистогематического барьера [Edds G., 1979; Clark M. et al., 1981].

Афлатоксикозы представляют большую проблему и для птицеводства. В различные годы в ряде стран гибель домашней птицы при острых отравлениях афлатоксинами варьировала от 30 до 100%, а яйценоскость падала на 80—95% [Pal M., Jain H., 1980; Abdullah A., Lee O., 1981; Choudary C., Rao M., 1982]. Основными симптомами интоксикации у птиц являются остановка роста, отсутствие аппетита, снижение яйценоскости, подкож-

ные геморрагии, явления поражения нервной системы, иногда желтуха. Наряду с изменениями печени для птиц характерным признаком афлатоксикоза служит поражение лимфоидной ткани [Allcroft R., 1969; Abdullah A., Lee O., 1981; Pier A., 1981]. Следует подчеркнуть, что у домашней птицы чаще, чем у других видов сельскохозяйственных животных, наблюдается снижение резистентности к инфекционным заболеваниям [Edds G. et al., 1973].

У других видов домашних животных (лошади, овцы, козы) токсикозы, вызванные афлатоксинами, описаны только в экспериментальных условиях, причем клиническая картина отравления весьма близка: отсутствие аппетита, нарушение функций желудочно-кишечного тракта, явления поражения нервной системы. У овец частым симптомом является гиперсаливация, у коз иногда развивается желтуха. Введение с рационом взрослым шотландским пони смеси афлатоксинов B_1 и G_1 в дозе 0,075—0,3 мг на 1 кг массы тела через 3—7 дней приводило к развитию острого токсикоза с выраженной атаксией и тремором, причем при максимальной дозе животные погибали на 12—16-й, а при минимальной — на 36—39-й день [Edds G., 1979; Cysewski S. et al., 1982]. Весьма чувствительными к афлатоксинам оказались норки, у которых явления острого токсикоза развивались даже после однократного введения смеси афлатоксинов B_1 и G_1 в суммарной дозе 0,3 мг на 1 кг массы тела [Chou C. et al., 1976].

Итак, приведенные примеры свидетельствуют о высокой чувствительности многих видов животных к афлатоксинам. Причины выраженных межвидовых различий в чувствительности к острому токсическому действию афлатоксинов изучали многие исследователи. По мнению D. Patterson (1973), они могут быть связаны с различиями в скорости метаболизма афлатоксинов у разных животных. В. А. Тутельян и соавт. (1974) выявили существенные различия в действии афлатоксина B_1 на стабильность мембран лизосом печени чувствительных и резистентных к афлатоксинам животных. В опытах на крысах линии Fischer и мышах линии Swiss показано, что общий уровень образующихся аддуктов афлатоксина B_1 с ДНК коррелирует с чувствительностью этих животных к токсическому действию афлатоксинов [Essigmann J. et al., 1982; Croy R. et al., 1983].

Как уже было отмечено, все афлатоксины являются ядами с выраженным гепатотропным действием — во всех случаях органом-мишенью является печень. При этом наблюдаются обширные коагуляционные и жировые некрозы гепатоцитов вплоть до массивных субтотальных некрозов паренхимы, а также жировая и белковая дистрофия в менее поврежденных клетках. Преимущественная локализация некрозов паренхимы у отдельных видов животных различается: для кошек, крыс, индюшат и цыплят характерен перипортальный тип; для молодых обезьян — очаговый; для свиней, крупного рогатого скота, коз, собак, морских свинок и хомячков — центрилобулярный. Для афлатоксиновой интокси-

кации типична возникающая в течение 48 ч и быстро прогрессирующая пролиферация эпителия желчных протоков, часто сопровождающаяся разрастанием соединительной ткани [Покровский А. А., Безпрозванный Б. К., 1972; Allcroft R., 1969; Newberne P., Butler W., 1969; Wogan G., 1973; Butler W., 1974]. При интоксикациях, вызванных небольшими количествами афлатоксинов, а также при подострых отравлениях в печени преобладает билиарная пролиферация с фиброзом, часто в сочетании с очагами некроза и множественными узлами регенерации, достигающая степени цирроза [Покровский А. А., Безпрозванный Б. К., 1972; Покровский А. А. и др., 1973; Butler W., 1974].

Изучение динамики изменений ультраструктуры гепатоцитов при остром афлатоксикозе показало, что первоначальные изменения возникают в ядерных структурах уже через 30 мин после введения афлатоксинов и проявляются в разделении гранулярного и фибриллярного компонентов ядрышек и увеличении числа интерхроматиновых гранул. Через 1—3 ч отмечается дегрануляция шероховатого и пролиферация гладкого эндоплазматического ретикулума. К 6 ч присоединяются нарушения структуры митохондрий и пластинчатого комплекса. В течение первых 2 сут наблюдаются прогрессирующее уменьшение содержания гликогена в цитоплазме, пролиферация гладкого эндоплазматического ретикулума. В гепатоцитах появляется множество миелиноподобных фигур и вторичных лизосом аутофагического типа, увеличивается число пероксисом. Другой тип изменений ультраструктуры гепатоцитов в первые дни при остром афлатоксикозе характеризуется сочетанием описанных выше нарушений структуры ядер с появлением на фоне образующихся полей «пустой» цитоплазмы удлиненных, относительно прямых профилей шероховатого эндоплазматического ретикулума и превращением пролиферированного гладкого эндоплазматического ретикулума в своеобразный «войлок» [Безпрозванный Б. К. и др., 1971; Покровский А. А., Безпрозванный Б. К., 1972; Krustev L., Kamenova B., 1981; Cysewski S. et al., 1982]. Эти ранние изменения ультраструктуры гепатоцитов при остром афлатоксикозе представляют собой вариант типичной реакции клеток печени на воздействие гепатотропных ядов — ингибиторов синтеза белка.

Биохимическими индикаторами повреждения печени под действием афлатоксинов служат, во-первых, повышение активности в сыворотке крови органо- и органеллоспецифических ферментов (щелочная фосфатаза, аспартатаминотрансфераза, сорбитолдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, γ-глутамилтрансфераза и др.), во-вторых, снижение содержания в сыворотке крови общего белка, белковых фракций (α-, β- и γ-глобулинов), а также фибриногена, в-третьих, возрастание концентрации в сыворотке крови желчных кислот — гликохолевой и особенно гликодезоксихолевой [Покровский А. А. и др., 1977; Osuna O., Edds G., 1982; Baetz A., McLoughlin M., 1983]. Следует подчеркнуть, что с помощью этих показателей можно не только диагностировать сам факт наруше-

ния функциональной активности и структурной организации печени, но и с высокой степенью достоверности установить глубину поражения клеток и субклеточных структур

Исследованиями последних лет убедительно показано, что при острых отравлениях, вызванных высокими дозами афлатоксинов, патологические изменения различной степени выраженности выявляются и в других органах. У крыс, например, при введении афлатоксина B_1 в концентрации, равной LD_{50}, наблюдались очаговые некрозы в миокарде, почках и селезенке. Нефротоксическое действие афлатоксина B_1 выявляется даже при однократном введении низких доз (0,1 мг на 1 кг массы тела). При этом резко уменьшается скорость клубочковой фильтрации и реабсорбция глюкозы почечными канальцами [Grosman M. et al., 1983] В подострых экспериментах афлатоксин B_1 вызывал дегенеративные изменения как в центральной, так и в периферической нервной системе у крыс [Ikegwuonu F., 1983]. G. Egbunike (1982) получил экспериментальные доказательства, указывающие, что в основе нарушения сперматогенеза при афлатоксикозе лежит подавление функциональной активности интерстициальных клеток.

Различные представители семейства афлатоксинов значительно отличаются друг от друга по токсическим свойствам. Наиболее активным среди афлатоксинов является афлатоксин B_1. Его LD_{50} для однодневных утят составляет всего 0,36 мг/кг, в то время как для афлатоксинов B_2, G_1 и G_2 эти величины значительно выше — соответственно 1,7; 0,78 и 2,83. Для крыс линии Fischer LD_{50} афлатоксина B_1 составляет 1,16 мг/кг, афлатоксина G_1 — 1,5—2 мг/кг, а афлатоксины B_2 и G_2 малотоксичны даже в дозах, превышающих 200 мг/кг [Wogan G. et al., 1971]. Высокой токсичностью отличается афлатоксин M_1 — его LD_{50} при однократном введении составляет для утят около 0,4 мг/кг. Несколько менее токсичен афлатоксин M_2, LD_{50} которого равна 1,5 мг/кг. Следует отметить, что изменения печени у утят и крыс, вызванные введением афлатоксина M_1, не отличались от изменений, вызванных аналогичными дозами афлатоксина B_1 [Purchase I., 1967; Pong R., Wogan G., 1971]. Афлатоксин B_{2a} в 200 раз менее токсичен для утят, чем афлатоксин B_1 [Lillehoj E., Ciegler A., 1969].

Получены доказательства в пользу зависимости токсических (в том числе и канцерогенных) свойств афлатоксинов от наличия в их структуре фурофуранового остатка [Wogan G. et al., 1971]. При сравнении токсических свойств афлатоксинов и их синтетических аналогов было показано, что соединения, в которых отсутствует дигидрофурофурановое кольцо, не оказывают токсического действия даже в дозах, превышающих эффективную дозу афлатоксина B_1 в 100—200 раз. Так, 5,7-диметокси-циклопентенон (2,3-с)-кумарин, полностью повторяющий структуру афлатоксина B_1, но не имеющий дигидрофурофуранового кольца, в опытах на крысах, утятах, куриных эмбрионах и радужной форели оказался малотоксичным. По-видимому, отсутствие двойной связи в терминальном фурановом кольце афлатоксинов B_2, G_2, B_{2a} и M_2

обусловливает их менее выраженную токсичность по сравнению с афлатоксинами B_1, G_1 и M_1 [Garner R. et al., 1972; Lau H., Chu F., 1983]. Однако активность афлатоксинов не определяется только наличием в их структуре 2,3-винильной эфирной связи. Так, гидроксилирование фурофуранового кольца (афлатоксин M_1), изменения в структуре циклопентанона (афлатоксин G_1, афлатоксикол), замещение метоксигруппы (афлатоксин P_1) сопровождаются уменьшением биологической активности образующихся соединений. К снижению токсичности приводит и раскрытие лактонового кольца, происходящее в процессе щелочной обработки афлатоксина B_1 [Cucullu A. et al., 1976; Loew G., Poulsen M., 1981]. Эти различия в биологической активности могут быть результатом изменений липофильных свойств указанных соединений пути и скорости метаболической детоксикации, скорости метаболической активации (образования 2,3-эпоксида), стабильности или, наконец, сродства к клеточным нуклеофилам-мишеням, связывание с которыми определяет токсичность афлатоксинов.

Заслуживают внимания данные о токсических свойствах предшественников афлатоксина B_1. Показано, что по мере усложнения их структуры параллельно возрастает и их биологическая активность. В опытах на куриных эмбрионах норсоларниновая кислота, аверантин и аверуфин в концентрациях 0,5—12,5 мкг на яйцо не проявляли какого-либо токсического действия, в то время как более поздние предшественники (версиколорин А и стеригматоцистин) обладали выраженной токсичностью. При этом LD_{50} значительно уменьшалась, составляя для версиколорина А 9 мкг на яйцо, для стеригматоцистина — 1,9, а для конечного продукта биосинтеза, афлатоксина B_1 — всего лишь 0,025 мкг на яйцо [Dunn J. et al., 1982].

В заключении раздела, посвященного характеристике основных проявлений острого токсического действия афлатоксинов, представляется целесообразным более подробно остановиться на их иммунодепрессивных эффектах, лежащих в основе снижения резистентности животных к инфекции. Следует отметить, что некоторые авторы рассматривают состояние снижения сопротивляемости организма под действием незначительных количеств афлатоксинов, поступающих с пищей или кормом, как самостоятельную форму афлатоксикозов, имеющую, возможно, более важное практическое значение, чем острые формы [Блинов Н. И., 1984; Pier A., 1981]. Результаты изучения влияния афлатоксинов на иммунный ответ у различных животных и птиц показали, что они являются сильными иммунодепрессантами и подавляют как клеточный и гуморальный иммунитет, так и факторы неспецифической защиты организма [Pier A., 1973, 1981; Pier A. et al., 1977; Giambrone J. et al., 1978; Chang C., Hamilton P., 1979; Bodine A. et al., 1984]. Как уже отмечалось, афлатоксины B_1 и M_1 у цыплят, индюшат и свиней вызывают быструю инволюцию сумки Фабрициуса (у птиц) и вилочковой железы (у свиней), подавляя тем самым образование Т-лимфоцитов [Edds G., 1979;

Pier A., 1981]. Афлатоксин B_1 в дозах, малотоксичных для морских свинок, ингибировал реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [Pier A. et al., 1977]. У цыплят, получавших с кормом афлатоксин B_1 в концентрации 2,5 мг/кг в течение 2 или 4 нед, выявлено значительное угнетение реакции «трансплантат против хозяина», а у получавших тот же рацион в течение 7 нед — и реакции ГЗТ [Giambrone J. et al., 1978].

Иммуноденрессивное действие афлатоксинов может быть в определенной степени следствием нарушения функций макрофагов. Так, у цыплят наблюдали зависимое от дозы афлатоксинов снижение клиренса коллоидного углерода из кровотока [Michael G. et al., 1973]. Афлатоксин B_1 уменьшал фагоцитарную активность альвеолярных макрофагов кролика [Richard J., Thurston J., 1975]. У цыплят, получавших с кормом смесь афлатоксинов B_1, B_2, G_1 и G_2, также наблюдали резкое снижение фагоцитарной активности моноцитов и гетерофилов (клеток, эквивалентных нейтрофилам), в то время как фагоцитарная активность тромбоцитов (основных фагоцитирующих клеток периферической крови у цыплят) при этом не менялась [Chang C.-F., Hamilton P., 1979a, b, c]. Предполагают, что фагоцитарная способность тромбоцитов не нарушается при афлатоксикозе, так как она в отличие от таковой моноцитов и гетерофилов не зависит от термостабильного комплемента, концентрация которого при афлатоксикозе значительно снижается. Уменьшение количества некоторых компонентов комплемента обнаружено также в сыворотке крови морских свинок при введении им внутрь смеси афлатоксинов [Thurston J., Richard J., 1979].

Доказательства в пользу ингибирующего действия афлатоксинов на клеточный иммунитет получены и в опытах in vitro: афлатоксин B_1 подавлял реакцию бласттрансформации лимфоцитов периферической крови, стимулированную специфическими для Т-лимфоцитов митогенами (туберкулином, возбудителем паротита, конканавалином А и фитогемагглютинином) [Savol H. et al., 1970; Paul P. et al., 1977]. В меньшей степени выражено влияние афлатоксинов на показатели гуморального иммунитета. В большинстве изученных случаев антителообразование при афлатоксикозах существенно не нарушалось. При длительном введении афлатоксинов с кормом у цыплят обнаруживали снижение титра агглютининов и уровня IgG и IgA [Giambrone J. et al., 1978]. Некоторое подавление антителообразования под действием афлатоксинов наблюдали и у мышей [Галикеев X. Л. и др., 1968]. Угнетение функции В-клеток афлатоксинами отмечалось и в опытах in vitro. В концентрации 10—20 мкг/мл афлатоксин B_1 подавлял на 50% реакцию бласттрансформации лимфоцитов, индуцированную митогеном лаконоса [Paul P. et al., 1977].

Результатом снижения функциональной активности иммунной системы животных под действием афлатоксинов является уменьшение их резистентности к инфекционным заболеваниям [Pier A., 1973, 1981; Ruff M., Wyatt R., 1978]. Включение афлатоксина B_1

в низких концентрациях в корм домашней птицы резко снижало их резистентность к дрожжевой флоре (Candida albicans), кокцидиям (Eimeria tenella, E. acervulina), сальмонеллам (Salmonella spp.), вирусам болезни Марека и Ньюкасла, возбудителям холеры домашней птицы (Pasteurella multocida). Афлатоксин B_1 в дозе 0,07 мг/кг повышал чувствительность молодых свиней к Treponema hyodysenteriae, а в дозе 0,5—1 мг/кг снижал резистентность телят к Fasciola hepatica.

По-видимому, есть все основания согласиться с авторами, расценивающими снижение иммунореактивности и резистентности организма к инфекциям как особую форму афлатоксикоза.

Значительное число работ, посвященных изучению особенностей токсического действия афлатоксинов, выполнено in vitro на различных клеточных системах. Именно эти исследования существенно способствовали расшифровке механизма действия афлатоксинов и разработке многих высокочувствительных методов их обнаружения в объектах окружающей среды.

Цитотоксическое действие афлатоксинов выявлено на культурах клеток печени куриных эмбрионов, клеток печени, легких и почек крысят, клеток почек теленка и обезьяны, и, что особенно важно, клеток печени эмбриона человека, лейкоцитов и фибробластов кожи человека, а также клеток Ченга, HeLa и др. [Legator M., 1969]. Токсические эффекты от действия афлатоксинов на культурах клеток проявлялись в деструктивных изменениях клеток, подавлении их роста, ингибировании биосинтеза белка и ДНК, снижении митотической активности. В опытах с культурами клеток человека афлатоксин B_1 индуцировал хромосомные аберрации. Весьма важно, что минимальные эффективные концентрации афлатоксина B_1 в этих исследованиях in vitro были достаточно низкими и варьировали от 0,01 до 10 мкг на 1 мл культуральной среды.

Интересно отметить, что и в системах in vitro, так же как и в опытах in vivo, выявляется бо́льшая чувствительность к действию афлатоксинов культур клеток и тканей утят, чем цыплят и крыс [Legator M., 1969]. Высокой чувствительностью к афлатоксинам характеризуются клетки эмбриональных тканей человека: LD_{50} афлатоксина B_1 для клеток печени эмбриона человека составляет 1 мкг/мл, в то время как для клеток печени взрослого человека — 14,3 мкг/мл [Беньюмович М. С., 1973]. Афлатоксины G_1, G_2 и в значительно меньшей степени афлатоксин B_2 также оказывают цитотоксическое действие в клеточных системах in vitro. Для клеток печени эмбриона человека LD_{50} афлатоксина G_1 составляет 5 мкг/мл, а для афлатоксина G_2 — 16 мкг/мл [Legator M., 1969].

Токсическое действие афлатоксинов установлено и в отношении некоторых насекомых — домашней мухи (Musca domestica), дрозофилы и комара, вызывающего желтую лихорадку (Aedes aegypti), среди которых особой чувствительностью отличается домашняя муха [Detroy R. et al., 1971]. Отдельные линии лабора-

торных дрозофил (Drosophila melanogaster) значительно различаются по чувствительности к токсическому действию афлатоксинов [Gunst K. et al., 1982]. Практическое значение представляют данные о токсическом действии афлатоксинов на насекомых — вредителей сельскохозяйственных растений. W. McMillian и соавт. (1980) показали, что рост и развитие личинок совки хлопковой резко тормозятся при концентрации афлатоксинов B_1 или G_1 уже 0,0025 мкг/мл. К афлатоксину B_1 чувствительны медоносные пчелы (Apis mellifera), причиной их гибели в ульях может быть развитие микроскопических грибов — продуцентов афлатоксинов [Hilldrup J., Llewellyn G., 1979].

Большое число исследований посвящено изучению влияния афлатоксинов на микроорганизмы. Интересно, что при концентрации ядов менее 10 мкг/мл подавление роста наблюдалось лишь у немногих бактерий и микроскопических грибов. Ингибирующее рост действие на чувствительные к ним микроорганизмы выявлялось при увеличении концентрации ядов до 30—100 мкг/мл [Legator M., 1969; Lafont J. et al., 1976; Boutibonnes P., Auffray Y., 1977; Boutibonnes P., 1979]. Афлатоксин B_1 в концентрации 20—700 мкг/мл подавлял рост некоторых видов аспергилл и пеницилл, в том числе Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus, Penicillium chrysogenum и Penicillium duclauxi, но не оказывал какого-либо влияния на рост мицелия A. candidus, A. repens и Fusarium poae. Выраженное ингибирующее действие афлатоксин B_1 проявлял и по отношению к некоторым одноклеточным водорослям, в частности Chlorella pyrenoidosa, эффективная доза для которой составляла 4 мкг/мл [Lafont J. et al., 1976].

Среди бактерий чувствительными к афлатоксинам оказались лишь немногие виды спорообразующих аэробных бактерий рода Bacillus (B. megaterium, B. subtilis, B. thuringiensis), эффективная концентрация для которых составила около 5 мкг/мл; Clostridium sporogenes из рода анаэробных спорообразующих бактерий (эффективная концентрация токсина до 30 мкг/мл); некоторые актиномицеты рода Streptomyces и Nocardia (эффективная концентрация 10—50 мкг/мл); Escherichia coli из рода Bacterium (концентрация 5 мкг/мл); Flavobacterium aurantiacum (эффективная концентрация 2,5—15 мкг/мл). Показано, что в клетках B. thuringiensis, B. megaterium и E. coli афлатоксин B_1 подавлял синтез белка и нуклеиновых кислот [Lafont J. et al., 1976; Boutibonnes P., Auffray Y., 1977, и др.]. Примечательно, что и в отношении клеток прокариот токсическое действие афлатоксина B_1 выражено в большей степени, чем других афлатоксинов. Например, рост B. megaterium полностью подавлялся афлатоксином B_1 в концентрации 10 мкг/мл, в то время как афлатоксин B_2 в концентрации даже 100 мкг/мл ингибировал рост этих бактерий только на 55%.

К биологическим системам, чувствительным к афлатоксинам, относятся и растения (табл. 4). В низких концентрациях афлатоксины нарушают синтез хлорофилла, а в высоких -- подавляют

Таблица 4. Влияние афлатоксинов на прорастание семян и рост растений [по Dashek W et al, 1981; Dashek W., Llewellyn G., 1982]

Вид растения	Концентрация токсинов, мкг мл	Эффект
Avena sativa	31,5 (смесь афлатоксинов)	Подавление прорастания семян на 20%, подавление элонгации корней на 4,3—68,8% через 65—117 ч
Glycine max "Essex"	2,9; 5,8 и 11,6 (афлатоксин B_1)	Подавление прорастания семян на 20; 40 и 80% через 18 ч
	2,9; 5,8 и 11,6 (афлатоксин B_1)	Подавление элонгации корней на 26; 25 и 50% через 140 ч
Lepidium sativum	25; 50 и 100 (афлатоксины)	Подавление прорастания семян на 35; 90 и 100%
	10 и 100 (афлатоксин B_1)	Подавление прорастания гипокотиля на 14,2 и 58%, первичного корешка — на 23,9%
Lilium longiflorum	25 и 30 (афлатоксин B_1)	Подавление прорастания семян на 27,3 и 45,1%
	+3 мМ KH_2PO_4	Подавление элонгации пыльцевой трубки на 23 и 36%
Cuminum cyminum	2,5 и 5 (афлатоксин B_1)	Подавление прорастания семян на 5% через 8 дней
Onoclea sensibilis	0,78, 1,56; 2,34; 3,13 и 3,9 (афлатоксин B_1)	Подавление прорастания семян на 6,7; 7,8; 27; 32,6 и 43,8%
Vigna sinensis	50 (афлатоксины)	Подавление прорастания семян на 100%
Zea mays	5,8 и 11,6 (смесь афлатоксинов)	Подавление прорастания семян на 23 и 25%
Carrallum freri	100 и 300 (афлатоксины)	Нарушение развития верхних листьев и цветочного бутона, гибель
Hordeum vulgare	31,5 (смесь афлатоксинов)	Подавление элонгации корней на 22,4—62,2%
Kalanchoe diagremontia	100 (афлатоксин B_1)	Подавление элонгации корней на 50%
Phalaris canariensis	50 (смесь афлатоксинов)	Подавление элонгации первичного корешка на 50%

прорастание семян и процессы роста растений. Интересно, что биохимические нарушения, наблюдаемые в растениях в условиях токсического действия афлатоксинов, во многом напоминают изменения в печени животных при афлатоксикозе: ингибирование процесса включения аминокислот в белки, блокирование активности некоторых ферментов и др. Эти факты позволяют предположить существование общих биохимических механизмов в токсическом действии афлатоксинов как на животные, так и растительные клетки [Young J. et al., 1978; Jones H. et al., 1980; Dashek W. et al., 1979, 1981; Dashek W., Llewellyn G., 1982, и др.].

КАНЦЕРОГЕННОЕ, МУТАГЕННОЕ И ТЕРАТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ

Многочисленные исследования, посвященные характеристике хронического действия афлатоксинов, показали, что они относятся к сильнейшим канцерогенам. Еще до выделения афлатоксина B_1 в кристаллическом виде было обнаружено, что арахисовая мука, явившаяся причиной гибели индюшат в Англии в 1960 г., вызывает образование гепатокарцином у крыс в хроническом эксперименте [Lancaster M. et al., 1961]. После получения афлатоксина B_1 в чистом виде было подтверждено, что канцерогенное действие арахисовой муки является следствием ее загрязнения этим соединением. В настоящее время возможность индукции гепатом путем введения афлатоксинов внутрь доказана для крыс различных линий (Fischer, Porton и Wistar), хомячков, хорьков, собак, радужной форели, лосося, гуппи и обезьян [Wogan G., 1973; IARC, 1976; Moore M. et al., 1982] (табл. 5).

Таблица 5. Канцерогенная активность афлатоксина B_1 *

Вид животных	Доза	Длительность наблюдений	Частота опухолеобразования, %
Утята	30 мкг на 1 кг корма	14 мес	72 (8 из 11)
Крысы	100 мкг на 1 кг корма	54—88 нед	100 (28 из 28)
Мыши:			
Swiss	150 мкг на 1 кг корма	80 нед	0 (0 из 60)
C57Bl/6NB	1000 мкг на 1 кг корма	80 нед	0 (0 из 30)
C3HfB/HEN	1000 мкг на 1 кг корма	80 нед	0 (0 из 30)
Гибриды, возраст 4 дня	6,0 мкг на 1 г массы тела (3 дозы внутрибрюшинно)	80 нед	100 (16 из 16)
Хомячки	2,0 мкг на 1 г массы тела (5 раз в неделю в течение 6 нед)	72 нед	35 (15 из 49)
Обезьяны:			
макаки резусы	100—800 мг (суммарная доза)	Более 2 лет	7 (3 из 42)
мартышки	5 мг (суммарная доза)	2 года	66 (2 из 3)
тупайя	24—66 мг (суммарная доза)	3 года	75 (9 из 12)
Радужная форель	8 мкг на 1 кг корма 4 мкг на 1 кг корма	12 мес 12 мес	40 (27 из 65) 15
Лосось	12 мкг на 1 кг корма	20 мес	50
Гуппи	6 мкг на 1 кг корма	11 мес	64 (7 из 11)

* По данным S. Vesselinovitch и соавт. (1972), J. Wales, R. Sinnhuber (1972), S. Sato и соавт. (1973), G. Wogan (1973), M. Moore и соавт. (1982).

Канцерогенная активность афлатоксинов отличается от действия других гепатоканцерогенных веществ некоторыми особенно-

стями: возможностью развития опухолевого процесса не только при длительном влиянии малых доз токсина, но и при однократном введении большой дозы; развитием опухоли печени часто без предшествующего цирроза; развитием на фоне длительно сохраняющейся билиарной пролиферации гепатоцеллюлярного рака, а не аденокарцином [Покровский А. А., Безпрозванный Б. К., 1972; Newberne P., Butler W., 1969]. Наконец, важной характерной особенностью действия низких доз афлатоксинов являются отдаленность проявления гепатоканцерогенного эффекта во времени и зависимость длительности латентного периода от сроков жизни данного биологического вида. Для утят, в частности, этот период измеряется месяцами, для крыс — 1—2 годами, а для обезьян — уже 5—7 годами. Показано, что рацион, содержащий афлатоксин B_1 в концентрации 0,1—5 мг/кг, вызывает в 100% случаев опухоли печени у крыс-самцов [Butler W., Barnes J., 1966]. В более поздних исследованиях образование гепатом наблюдали у 100% животных через 68—80 нед при включении очищенного афлатоксина B_1 в рацион крыс линии Fischer в количестве всего 15 мкг/кг. Канцерогенный эффект выявлялся и при включении в рацион совсем ничтожно малых концентраций афлатоксина B_1 (1 мкг/кг) — опухоли индуцировались у 2 из 22 крыс [Wogan G., Newberne P., 1967; Wogan G. et al., 1974] (табл. 6).

Таблица 6. Зависимость канцерогенной активности афлатоксина B_1 для крыс-самцов линии Fischer от его содержания в рационе [по Wogan G. et al., 1974]

Концентрация токсина в рационе, мкг на 1 кг корма	Продолжительность скармливания рациона, нед	Частота случаев гепатом (карцином)	Время появления наиболее ранней опухоли, недели
0	74—109	0/18	—
1	78—105	2/22	104-я
5	65— 93	1/22	93-я
15	69— 96	4/21	96-я
50	71— 97	20/25	82-я
100	54— 88	28/28	54-я

Показатели частоты случаев рака печени на протяжении жизни крыс, теоретически рассчитанные по экспериментальным данным G. Wogan и соавт. (1974), составили $70/10^5$ животных при концентрации афлатоксина B_1 0,1 мкг на 1 кг корма и $360/10^5$ животных при концентрации 0,3 мкг на 1 кг корма. Показатели частоты случаев рака у крыс, рассчитанные по суммарным результатам различных экспериментальных исследований, составили $240/10^5$ и $1100/10^5$ животных при концентрации афлатоксина B_1 соответственно 0,1 и 0,3 мкг на 1 кг корма [FDA, 1978; ВОЗ, 1982]. Эти расчеты убедительно показывают, насколько высока вероятность образования гепатом у крыс при поступлении

афлатоксина B_1 с кормом даже в таких чрезвычайно низких концентрациях, и, кроме того, исключительно высокую канцерогенную активность афлатоксинов. Введение афлатоксина B крысам с питьевой водой в концентрации 1 и 3 мкг/мл приводило к развитию гепатом у 19 из 30 крыс, получавших суммарную дозу токсина 2 мг, и у 3 из 10 крыс, получивших 1 мг [Butler W. et al., 1969]. Высокую частоту возникновения опухолей печени выявляли при кратковременном (в течение 10 дней) введении афлатоксина B_1 крысам в суммарной дозе всего 400 мкг на животное. Однократное внутрибрюшинное введение афлатоксина B_1 в дозе 7,65 мг на 1 кг массы тела приводило также к образованию гепатоцеллюлярных карцином у 7 из 13 крыс-самок спустя 60—128 нед [Wogan G., Newberne P., 1967]. Развитие гепатом наблюдали у выживших крыс линии Wistar через 21—32 мес после однократного введения им афлатоксина B_1 или афлатоксинов B_1 и G_1 одновременно в дозе, равной LD_{50}, в возрасте около 20 дней (отъемыши) [Carnaghan R., 1967]. При изучении проявления канцерогенного действия афлатоксинов у потомства было обнаружено образование холангиокарцином у крысят, подвергавшихся пренатальному (через плацентарный барьер) или постнатальному (через молоко матери) воздействию афлатоксинов B_1 и B_2 [Grice M. et al., 1973].

Хотя в большинстве случаев как афлатоксин B_1, так и смесь различных афлатоксинов, индуцируют развитие опухолей печени, в некоторых экспериментах у крыс выявляли карциномы железистого отдела желудка, толстой кишки, почек, а также чешуйчатоклеточную карциному языка и пищевода [Butler W. et al., 1969; Ward J. et al., 1975, и др.]. У крыс линии Wistar, получавших с кормом афлатоксин B_1 в концентрации 0,25; 0,50 и 1 мг/кг, была отмечена высокая частота эпителиальных опухолей почек — соответственно в 23; 28 и 57% случаев; частота гепатом составляла 62; 72 и 86% [Epstein S. et al., 1969]. Было отмечено, что примерно у 30% крыс с опухолями почек гепатомы отсутствовали. При длительном внутритрахеальном введении смеси афлатоксинов B_1 и G_1 (300 мкг) у 3 из 6 крыс были обнаружены чешуйчатоклеточные карциномы трахеи через 37—62 нед, а у 4 из 6 животных к 49—62-й неделе развивались и гепатомы [Dickens F. et al., 1966]. Подкожное введение смеси афлатоксинов B_1 и G_1 в количестве 50 мкг индуцировало развитие сарком на месте инъекции у 100% крыс в течение 21—60 нед. При подкожном введении афлатоксина B_1 в количестве 2 мкг 2 раза в неделю у 100% крыс обнаруживали саркомы через 18—37 нед. Афлатоксин G_1 в тех же дозах вызывал образование опухолей только у 67% животных через 30—50 нед [Dickens F., Jones H., 1963, 1965].

Весьма интересны сравнительные данные о канцерогенной активности различных афлатоксинов, хотя они получены в единичных исследованиях. В опытах W. Butler и соавт. (1969) установлено, что *афлатоксин G_1 является более слабым канцерогеном,*

чем афлатоксин B_1, и в отличие от него при поступлении в организм через желудочно-кишечный тракт чаще индуцирует развитие опухолей почек. При введении афлатоксина B_2 в общей дозе 150 мг на животное гепатоцеллюлярные карциномы возникли у 3 из 9 крыс спустя 57—59 нед. В этих же условиях афлатоксин B_1 индуцировал образование гепатом при введении его в количестве всего 1,3 мг на животное у всех 9 крыс (100%) через 36 нед [Wogan G. et al., 1971]. Полученные данные показывают, что эффективная доза афлатоксина B_2 в 115 раз превышает дозу афлатоксина B_1, индуцирующую образование гепатом у крыс. Допускают, что в процессе длительного введения афлатоксин B_2 может превращаться в организме животных в афлатоксин B_1 (или в какой-либо другой активный метаболит), который и оказывает канцерогенное действие. При этом достаточно превращения всего 0,1—1% введенной общей дозы афлатоксина B_2 для накопления афлатоксина B_1 в количествах, которые проявляют канцерогенное действие.

Имеются сведения о канцерогенном действии на крыс линии Wistar афлатоксикола. При содержании животных в течение года на рационах с включением афлатоксикола в концентрации 50 или 200 мкг/кг через 2 года у соответственно 20 и 70% животных развивались гепатоцеллюлярные карциномы [Nixon J. et al., 1981]. Предшественник афлатоксина B_1, стеригматоцистин, при введении крысам (внутрижелудочно или с кормом) в количестве 0,15—0,25 мг в день в течение 52 нед приводил к образованию гепатоцеллюлярных карцином у 39 из 50 животных через 123 нед [Purchase I., Van der Watt J., 1970]. Гепатомы и холангиомы наблюдали у крыс через 65 нед при подкожном введении им стеригматоцистина в общей дозе 24 мг. У 3 из 6 животных на месте инъекции возникали саркомы [Dickens F. et al., 1966]. При накожной аппликации стеригматоцистина (1 мг 2 раза в неделю) в течение 70 нед у 50—70% животных (в зависимости от используемого растворителя) выявляли гепатоцеллюлярные карциномы, а у 30—40% крыс — папилломы и саркому кожи [Purchase I., Van der Watt J., 1973].

В отличие от крыс мыши проявляют выраженную резистентность к канцерогенному действию афлатоксинов. У мышей различных линий (Swiss, C57Bl/6NB и C3HfB) при длительном (80 нед) скармливании рационов, содержащих афлатоксин B_1 в концентрации 150—1000 мкг/кг, опухоли не появлялись [Wogan G., 1973]. Только при внутрибрюшинном введении 4-дневным мышам-гибридам F_1 афлатоксина B_1 в дозе 6 мкг/кг в течение 3 дней через 80 нед у всех 16 животных развивались гепатомы [Vesselinovitch S. et al., 1972]. Имеется одно сообщение о канцерогенном действии стеригматоцистина на мышей. Мыши линии ICR на протяжении 58 нед получали через каждые 2 нед корм, содержащий стеригматоцистин в концентрации 5 мг/кг или культуру Aspergillus versicolor в таком же количестве. Соответственно у 36 и 5% животных развивались аденокарциномы легких. Количе-

ство аденом легких возрастало с 11% в контрольной группе до соответственно 84 и 60% в опытных группах [Zwicker G. et al., 1974]. У хомячков злокачественные опухоли печени удалось индуцировать длительным введением больших доз афлатоксина B_1. Так, при введении золотистым хомячкам афлатоксина B_1 per os в дозе 5 мг на 1 кг массы тела 5 раз в неделю в течение 6 нед через 78 нед у 2 из 49 животных были обнаружены гепатоцеллюлярные карциномы, а у 15 особей — холангиокарциномы [Moore M. et al., 1982]. Имеется одно сообщение [Butler W., Newberne P., 1969] о большой чувствительности к афлатоксинам хорьков. Включение в рацион этих животных 20% загрязненной афлатоксинами арахисовой муки (концентрация афлатоксинов не указана) приводило через 37 нед к развитию опухолей печени у 5 из 7 особей. Гепатомы развились и у 2 хорьков, получавших с кормом 3% токсичной муки в течение 28 мес.

Высокой чувствительностью к канцерогенному действию афлатоксинов обладает радужная форель. В США в большинстве случаев удалось выявить связь между заболеваемостью рыб и присутствием афлатоксинов в кормах [Halver J., 1969]. В ФРГ в 1968—1973 гг. наблюдалось резкое увеличение частоты гепатом у радужной форели в связи с включением в корма арахиса, семян хлопчатника и подсолнечника, загрязненных афлатоксинами. Потери рыбы при этом составляли 60—80% [Wunder W., 1981]. При изучении в экспериментах зависимости между частотой возникновения опухолей, концентрацией афлатоксина B_1 в корме в длительностью воздействия было показано, что минимальная концентрация афлатоксина B_1, индуцирующая развитие гепатом у 10% рыб при постоянном скармливании его в течение 20 мес, равна 0,1 мкг на 1 кг корма [Halver J., 1969]. Безопасная концентрация этого токсина, рассчитанная для этих условий, составляла 0,05 мкг/кг. Афлатоксины G_1 и M_1 проявляли менее выраженное канцерогенное действие на радужную форель. Так, при концентрации афлатоксина B_1 в корме 0,5 мкг/кг через 20 мес опухоли обнаруживали у 44% рыб, а при введении в тех же концентрациях афлатоксина G_1 — только у 11% рыб. Гепатомы выявляли через год у 14% самцов радужной форели при содержании в корме 4 мкг/кг афлатоксина M_1, при том же уровне афлатоксина B_1 в корме гепатомы развивались у 68% рыб через 8 мес.

Представляют интерес результаты, полученные R. Sinnhuber и J. Wales (1974). После воздействия афлатоксина B_1 в концентрации 0,5 мкг/мл на эмбрионы радужной форели в течение всего лишь 1 ч у 40% рыб, забитых на 321-й день жизни, были обнаружены гепатоцеллюлярные карциномы. С увеличением концентрации токсина возрастала частота обнаружения карцином печени [Hendricks J. et al., 1980].

Менее выражены канцерогенные свойства у афлатоксина Q_1. При его концентрации в корме 100 мкг/кг гепатоцеллюлярный рак обнаружили у 10,6% рыб через 12 мес. При уменьшении кон-

центрации до 20 мкг на 1 кг корма опухоли у радужной форели не развивались [Masri M. et al., 1979].

Менее чувствительными к канцерогенному действию афлатоксинов оказались другие виды рыб. Афлатоксин B_1 в дозах, значительно превышающих гепатоканцерогенные дозы для радужной форели, не индуцировал опухоли у гольца и кижуча (Oncorhynchus kisutch). У нерки красной (Oncorhynchus nerka) в 50% случаев удалось вызвать гепатомы при содержании рыб в течение 20 мес на рационе с включением, помимо афлатоксина B_1 (12 мкг/кг), циклопропеноидных жирных кислот в концентрации 50 мг/кг [Halver J., 1969; Wales J., Sinnhuber R., 1972]. У гуппи (*Lebistes reticulatus*), получавших с кормом афлатоксин B_1 в количестве 6 мг/кг, гепатомы развивались у 56% рыб в течение 11 мес [Sato S. et al., 1973].

До 1972 г. приматы считались резистентными к канцерогенному действию афлатоксинов. В 1972 г. впервые было опубликовано сообщение об обнаружении у самца макаки резус, получавшего частично очищенные препараты афлатоксинов B_1 и G_1 в течение $5^1/_2$ лет в суммарной дозе 1,655 г (1-й год — внутримышечные инъекции по 50 или 100 мкг в день, последующие $4^1/_2$ года — per os по 200 мкг в день), гепатоцеллюлярной карциномы через 8 лет после начала эксперимента [Gopalan C. et al., 1972]. Описан случай метастазирующей гепатомы у самки макаки резус, получавшей смесь афлатоксинов B_1 (44%), G_1 (44%), B_2 (2%) и G_2 (2%) в течение $5^1/_2$ лет, почти через 11 лет после начала опыта [Tilak T., 1975]. R. Adamson и соавт. (1973) изучали хроническое действие афлатоксина B_1 на 40 обезьянах обоего пола. У одной самки макаки резус, получившей афлатоксин B_1 в суммарной дозе около 500 мг в течение 6 лет, была выявлена первичная карцинома печени. Первичный рак печени обнаружили у 1 из 9 мартышек, получавших в течение 55 нед с кормом афлатоксин B_1 в дозе 200 мкг на 1 кг массы тела и у 2 из 7 мартышек, одновременно инфицированных вирусом гепатита [Lin J. et al., 1974]. При содержании обезьян тупайя в течение 74—172 нед на рационах с афлатоксином B_1 в количестве 2 мг/кг образование гепатоцеллюлярных карцином наблюдали у 6 из 10 самок и у 3 из 8 самцов при общей дозе афлатоксина B_1 24—66 мг на животное [Reddy J., Svoboda D., 1975].

Y.-H. Zhang и соавт. (1981) выявили аденокарциномы пазух решетчатой кости и гепатомы у свиней, погибших в результате интоксикации при употреблении в течение длительного срока в качестве корма арахисового шрота, содержащего афлатоксины в концентрации 250—300 мкг/кг.

Итак, многочисленные результаты изучения канцерогенных свойств афлатоксинов на различных видах животных свидетельствуют о том, что: 1) они обладают канцерогенным действием на многие виды животных, включая приматов; 2) афлатоксины обладают исключительно сильным канцерогенным действием на некоторые виды животных (утята, радужная форель); 3) эти яды

обладают выраженным гепатотропным действием, индуцируя преимущественно гепатоцеллюлярные карциномы; 4) канцерогенный эффект афлатоксинов существенно зависит от дозы; 5) афлатоксины индуцируют чаще опухоли у самцов, чем у самок, и у молодых и растущих животных, чем у взрослых.

Мутагенное действие афлатоксинов изучено на различных организмах и типах растительных и животных клеток. Как афлатоксин B_1, так и смесь афлатоксинов индуцируют хромосомные аберрации (главным образом хроматидные разрывы и транслокации) в растительных клетках, культуре клеток лейкоцитов человека, клеток почки кенгуровой крысы и китайского хомячка, в клетках костного мозга мышей, хомячков и обезьян [Аджигитов Ф. И. и др., 1984; Ong T.-M., 1975; El-Zawahri M. et al., 1977; Hayes A., 1978; Fabry L., Roberfroid M., 1981; Bárta I. et al., 1984; Emerit I. et al., 1984]. Отмечено, что активация афлатоксина B_1 препаратами микросом печени в значительной степени усиливает его мутагенную активность в отношении клеток почек китайского хомячка и лимфоцитов человека. Частота генных мутаций у Neurospora crassa, индуцированных афлатоксинами B_1 и G_1, возрастала соответственно в 73—217 и 9—15 раз в системах in vitro с включением гомогенатов печени хомячка или мыши [Matzinger P., Ong T.-M., 1976]. Показано также, что афлатоксин B_1 вызывает генные мутации в бактериальных тест-системах (Salmonella typhimurium) после активации микросомами из печени крысы и некоторых других видов животных. Афлатоксин B_1 индуцировал рецессивные летальные мутации у Drosophila melanogaster и доминантные летальные мутации у мышей [Ong T.-M., 1975].

При изучении мутагенной активности промежуточных соединений биосинтеза афлатоксина B_1 было выявлено, что мутагенные свойства связаны с фурофурановым компонентом молекулы и не зависят от антрахинона. В частности, мутагенный эффект норсолариновой кислоты, аверуфина и версиконал-ацетата в системе Эймса (Salmonella typhimurium TA 98) был незначительным, в то время как версиколорин уже обладал выраженной мутагенной активностью, у стеригматоцистина она возрастала в 2 раза, а мутагенные свойства конечного продукта — афлатоксина B_1 были в 10 раз более выраженными, чем у стеригматоцистина [Wong J. et al., 1977].

В табл. 7 суммированы данные о мутагенной активности различных афлатоксинов в бактериальных и дрожжевых тест-системах, обычно используемых для оценки и выявления мутагенных свойств ксенобиотиков, включая микотоксины. При сравнении мутагенной активности различных представителей семейства афлатоксинов в отношении Salmonella typhimurium с данными о канцерогенном действии этих соединений на лабораторных животных (табл. 8) обращает на себя внимание выраженная корреляция между мутагенностью токсинов, определяемой in vitro, и канцерогенностью, наблюдаемой in vivo. Важно отметить, что выявле-

Таблица 7. Мутагенная активность афлатоксинов в некоторых биологических тест-системах [по Hayes A., 1978]

Токсин	Тест-системы			
	Bacillus subtilis	Salmonella typhimurium TA 98	Salmonella typhimurium TA 1538	Saccharomyces cerevisiae
Афлатоксины:				
B_1	+	+	+	+
B_2	—	—	—	Не исследовали
G_1	+	+	+	То же
G_2	—	—	—	» »
M_1	—	+	Не исследовали	» »
Q_1	Не исследовали	+	—	» »
P_1	То же	—	Не исследовали	» »
B_{2a}	» »	—	То же	» »
Афлатоксикол	» »	+	» »	» »
Стеригматоцистин	+	+	+	+

ние мутагенной активности афлатоксинов требует обязательной предварительной активации их микросомными ферментами печени, так же как и связывание их с макромолекулами клеток in vivo [Wong J., Hsieh D., 1976].

Данные о тератогенных свойствах афлатоксинов малочисленны. В экспериментах тератогенное действие афлатоксина B_1 было продемонстрировано на хомячках, крысах, мышах и цыплятах. Афлатоксин B_1, введенный хомячкам на 8-й день беременности, индуцировал уродства у 29,4% плодов и вызывал гибель или резорбцию 17,6% эмбрионов. При дозе токсина 4 мг на 1 кг массы тела различные нарушения отмечались у 50% плодов, в то время как доза в 2 мг/кг не оказывала какого-либо влияния на развитие эмбрионов [Ong T.-M., 1975]. R. Schmidt и R. Panciera (1980) при введении афлатоксина B_1 в дозе 6 мг/кг на 8-й или 9-й день беременности у 15-дневных плодов наблюдали значительную задержку роста и различные токсические повреждения (подкожные кровоизлияния, отеки, асцит, некрозы миокарда). У крыс линии Wistar, которым с 1-го по 14-й день беременности вводили внутрибрюшинно через день афлатоксин B_1 в дозе всего 1 мкг/кг, к 21-му дню обнаруживали гибель 1% и резорбцию 5,8% плодов, а также различные аномалии развития (микроцефалия, брадидактилия — у 3.5% плодов) [Cilievici O. et al., 1980]. Введение афлатоксина B_1 в дозе 0,3 мг/кг крысам в середине беременности (с 11-го по 14-й день) приводило к выраженным нарушениям локомоторной координации и процесса «обучения» у потомства в раннем постнатальном периоде [Tanimura T., Kihara T., 1983].

Афлатоксин B_1 проявлял выраженное эмбриотоксическое и тератогенное действие на мышей. У 11,5% эмбрионов мышей линии

Таблица 8. Мутагенная (in vitro на Salmonella typhimurium) и канцерогенная (in vivo на лабораторных животных) активность различных афлатоксинов [по Hayes A., 1978; Loew G., Poulsen M., 1981]

Токсины	Относительная мутагенность *	Канцерогенное действие
Афлатоксин B_1	100	Сильное гепатоканцерогенное действие на крыс и радужную форель
Стеригматоцистин	20—40	Гепатоканцерогенное действие на крыс, менее выраженное, чем у афлатоксина B_1
Афлатоксикол	22,8	Гепатоканцерогенная активность около 50% активности афлатоксина B_1 для радужной форели
Версиколорин А	10—20	
Афлатоксины:		
G_1	3,3	Гепатоканцерогенное действие на крыс и радужную форель менее выраженное, чем у афлатоксина B_1
M_1	3,2	Гепатоканцерогенное действие, выраженное слабее как для крыс, так и для радужной форели (около $^1/_3$ от активности афлатоксина B_1)
Q_1	1,1	Не проявляет канцерогенного действия на радужную форель
B_2	0,2	Канцерогенная активность менее выраженная, чем у афлатоксина B_1, для крыс (в 150 раз) и радужной форели
P_1	0,1	Не обнаружено
G_2	0,1	То же
B_{2a}	0	» »
G_{2a}	0	» »

CBA, подвергшихся воздействию афлатоксина B_1 через плацентарный барьер (введение токсина в дозе 4 мг на 1 кг массы тела самки) на 8-й день внутриутробной жизни, обнаруживали различные пороки (мозговые грыжи, открытые веки, аномалии желудочно-кишечного тракта). В более высоких дозах (16 и 32 мг/кг) афлатоксин B_1 при введении на 6—7-й день беременности мышам линии Jcl: ICR индуцировал частые уродства типа расщепленного нёба, а при введении на 10—11-й день чаще встречались аномалии развития скелета (рифленые ребра, изгибы длинных костей) [Arora R. et al., 1981; Tanimura T., Kihara T., 1983].

Введение афлатоксина B_1 в желточный мешок куриных эмбрионов на 6-й день инкубации в количестве всего 0,2—0,6 мкг приводило к развитию уродств у 65—90% эмбрионов [Ong T.-M., 1975]. Воздействие афлатоксина B_1 в концентрации 1 мкг/мл на икринки японской медаки (Oryzias latipis) вело к гибели всех икринок в течение 72 ч. Исключительно низкие концентрации токсина (0,05 мкг/мл) оказывали выраженное тератогенное действие, которое проявлялось в нарушениях развития сердечно-со-

-судистой системы, органов зрения и некоторых других внутренних органов рыб [Llewellyn C. et al., 1977]. Авторы подчеркивают, что этот вид карпозубых рыб, хотя и менее чувствителен к эмбриотоксическому и тератогенному действию афлатоксинов, чем куриные эмбрионы, является значительно более чувствительным по сравнению с другими видами рыб.

Итак, биологическая активность афлатоксинов проявляется как в виде острого токсического эффекта, так и отдаленных последствий — канцерогенного, мутагенного и тератогенного эффектов. Рассматривая биологическое действие афлатоксинов, мы намеренно не экстраполировали результаты исследований на лабораторных и сельскохозяйственных животных на человека. Этот вопрос будет освещен в специальном разделе. Биологическая активность афлатоксинов в существенной степени зависит от многих факторов, которые могут влиять и на конечный биологический эффект этих ядов.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ АФЛАТОКСИНОВ

К настоящему времени накоплен значительный фактический материал, свидетельствующий о возможности модификации в широких пределах токсических, канцерогенных и других проявлений биологической активности афлатоксинов путем воздействия различными факторами.

Токсическое действие афлатоксинов в значительной степени зависит от возраста и пола животных. Общим для всех видов животных является уменьшение их чувствительности к афлатоксинам с возрастом. Как можно было видеть из данных, представленных в табл. 3, LD_{50} для новорожденных крыс почти в 10 раз ниже, чем для крыс-отъемышей, и в 13 раз ниже, чем для взрослых самцов. Показано, что самки более устойчивы к острому токсическому, а также канцерогенному действию афлатоксинов, чем самцы. Из табл. 3 видно, что взрослые самцы крыс примерно в $2^1/_2$ раза более чувствительны к афлатоксину B_1, чем самки (LD_{50} составляет для них соответственно 7,2 и 17,9 мг на 1 кг массы тела). Интересно, что при включении в рацион крыс обоего пола афлатоксина B_1 частота появления предраковых изменений в печени почти одинакова у самцов и самок, однако период между появлением этих изменений и развитием карцином печени у самок значительно более длительный, чем у самцов [Newberne P., Wogan G., 1968] (табл. 9). В опытах, проведенных на цыплятах-бройлерах австралийской породы, также была выявлена большая чувствительность петушков к острому действию афлатоксина B_1. Однократное введение токсина в дозе 14,3 мг/кг приводило к гибели 40% петушков, а введение курочкам даже более высокой дозы (15,7 мг/кг) вызывало гибель лишь 10% особей [Bryden W. et al., 1980].

L. Prince и T. Campbell (1982) наблюдали, что уже через час после введения меченого афлатоксина B_1 в печени самцов крыс

Таблица 9. Зависимость канцерогенной активности афлатоксина B от пола крыс [по Newberne P., Wogan G., 1968]

Концентрация токсина, мг на 1 кг рациона	Суммарная доза, мг на одно животное		Время появления опухолей печени, дни	
	самцы	самки	самцы	самки
1	2,9	5,9	245	448
0,015	0,095	0,115	476	560

накапливается значительно большее количество токсина, чем в печени самок. Такая же зависимость прослеживалась и для связывания токсина с белками хроматина в гепатоцитах. В опытах in vitro также было установлено, что афлатоксин B_1 связывается быстрее и в больших количествах с микросомными белками и с ДНК из печени самцов крыс [Gurtoo H. et al., 1976]. Микросомы, выделенные из печени самцов, образуют активные метаболиты афлатоксина B_1 (оценка — по количеству аддуктов афлатоксина B_1 с ДНК) в 2—3 раза быстрее, чем микросомы из печени самок [Gurtoo H., Motycka L., 1976]. Предварительная кастрация самцов или введение тестостерона самкам приводило к выравниванию этих различий.

Есть все основания полагать, что выявленные половые различия в чувствительности животных к афлатоксинам обусловлены различиями в гормональном фоне. Введение самцам крыс одновременно с афлатоксином B_1 диэтилстильбэстрола вызывало снижение частоты развития опухолей печени (у 8 из 40 крыс, 25 из 35 в контроле) [Newberne P., Williams G., 1969]. Кастрация самцов крыс снижала чувствительность их к афлатоксину B_1, а введение тестостерона кастрированным крысам приводило к гибели всех экспериментальных животных [Righter H. et al., 1972].

Изменения гормонального фона животных существенно влияют на метаболизм афлатоксинов и их токсическое действие. У гипофизэктомированных крыс повышалась устойчивость к подострому действию афлатоксина B_1: в отличие от интактных животных у них не обнаруживали характерных для афлатоксикоза гистопатологических изменений печени, менее выраженными были сдвиги и биохимических показателей [Neal G., Judah D., 1978]. Канцерогенное действие афлатоксина B_1 также было сниженным у гипофизэктомированных особей: при концентрации токсина, равной 4 мг на 1 кг корма, у 100% крыс контрольной группы развивались опухоли печени в течение 49 нед, но ни у одной из 14 оперированных крыс такие опухоли не обнаружили, хотя у 4 из них и были выявлены карциномы слезных желез [Goodal C., Butler W., 1969]. Можно предположить, что снижение токсического действия афлатоксина B_1 у гипофизэктомированных животных является следствием уменьшения скорости образования в организме активных метаболитов токсина, в основе которого лежит вызванное изменением гормонального фона уменьшение чис-

ла либо мембран эндоплазматического ретикулума, либо систем, ответственных за транспорт гормонов.

Введение самкам крыс препарата Ovral-28 (смесь норгестрела и этинилэстрадиола) полностью предотвращало острое токсическое действие однократно введенного афлатоксина B_1 [Mgbodile M., Holscher M., 1976]. Однако при длительном (в течение 1—9 мес) введении этинилэстрадиола самкам наблюдались усиление гепатотоксического действия афлатоксина B_1 и активация (до 400% контрольного уровня) в ткани печени маркера пренеопластических изменений — γ-глутамилтрансферазы [Kadem L. et al., 1983]. Оказалось, что этинилэстрадиол вызывает снижение содержания микросомных белков и цитохрома P-450, а также значительное и прогрессирующее ингибирование активности UDP-глюкуроноэилтрансферазы в печени.

Особый интерес представляют данные о влиянии на биологическую активность афлатоксинов компонентов пищи. Доказано, что снижение содержания белка в рационе сопровождается усилением токсического действия афлатоксинов на крыс, обезьян, поросят и цыплят [Покровский А. А. и др., 1969; Madhavan T., Gopalan C., 1965; Hamilton P., 1977]. У крыс различных линий в условиях белковой недостаточности (содержание на рационе с 5% белка) были более выраженными клинические симптомы афлатоксикоза, патологические изменения в печени и сдвиги биохимических показателей. Даже непродолжительное (10 дней) содержание крыс линии Wistar па рационах с недостаточным количеством белка приводило к значительному увеличению их чувствительности к токсическому действию яда. Так, при введении одной и той же дозы афлатоксина при полноценном питании в печени не обнаружили каких-либо морфологических нарушений и были отмечены лишь незначительные изменения в активности некоторых ферментов, а на фоне белковой недостаточности действие афлатоксина проявлялось выраженными морфологическими изменениями гепатоцитов, резкими нарушениями координированной деятельности различных ферментных систем печени. При этом обнаружен выход в кровь значительных количеств специфических ферментов печени [Покровский А. А. и др., 1969].

Увеличение уровня белка в рационе цыплят с 20 до 30% или дополнительное включение в рацион утят некоторых незаменимых аминокислот приводило к существенному возрастанию устойчивости птиц к действию афлатоксинов [Newberne P. et al., 1966; Smith J. et al., 1971] При длительном (в течение 2 лет) содержании крыс на рационах с различным количеством белка и ежедневном введении афлатоксина B_1 у 50% животных, получавших полноценный рацион, развивались гепатомы, в то время как ни у одной из выживших крыс, получавших сниженное количество белка, опухолей не было [Madhavan T., Gopalan C., 1968]. В то же время в экспериментах P. Newberne и G. Wogan (1968) у крыс, получавших афлатоксин B_1 на фоне рациона с 9% белка, гепатомы развивались у 73% животных за 8 мес, а на полноцен-

ном рационе (22% белка) — только у 50% крыс в течение 10 мес.

А. Попов и соавт. (1982), Л. Кръстев и соавт. (1984), B. Appleton и T. Campbell (1982, 1983) получили новые доказательства в пользу того, что снижение уровня белка в рационе или содержание животных на редуцированном в количественном отношении рационе повышает их чувствительность к острому токсическому действию афлатоксина B_1, но снижает вероятность развития злокачественных новообразований.

Большинство авторов считают, что уровень обеспечения организма белком во многом определяет активность ферментных систем, участвующих в метаболизме афлатоксинов, и, следовательно, их конечный биологический эффект. Показано, в частности, что при снижении содержания белка в рационе до 5% активность микросомных монооксигеназ и эпоксидгидролазы — ферментов, ответственных за метаболические превращения афлатоксинов в печени, падала соответственно на 75 и 35% контрольного уровня. При этом параллельно в 2 раза снижалось образование менее токсичных метаболитов афлатоксина B_1 — афлатоксинов M_1 и Q_1 [Adekunle A. et al., 1978]. В то же время в других исследованиях, проведенных на крысах линии Fischer, находившихся на рационе с 5% белка, было обнаружено уменьшение в 3—6 раз содержания афлатоксинов в печени по сравнению с животными, находившимися на полноценном рационе [Mainigi K., Campbell T., 1980]. Интересно, что и способность микросом печени превращать афлатоксин B_1 в активный метаболит, связывающийся с макромолекулами в клетках печени, была значительно выше у крыс, получавших полноценный рацион [Preston R. et al., 1976; Mainigi K., Campbell T., 1980; Hayes J., Campell T., 1980].

Таким образом, усиление острого токсического действия афлатоксина B_1 на фоне белковой недостаточности может быть связано с подавлением активности детоксицирующих ферментных систем печени, а снижение канцерогенного действия — следствием уменьшения при этом образования активных метаболитов афлатоксина B_1 или, возможно, усиления выведения их из организма в виде глюкуроновых конъюгатов [Woodcock B., Wood G., 1971].

Увеличение квоты белка в рационе радужной форели (62% белковый концентрат) приводило к усилению канцерогенного действия афлатоксинов [Lee D. et al., 1978]. Показано, что длительное содержание рыб на высокобелковом рационе сопровождается увеличением уровня цитохрома P-450, снижением активности эпоксидгидролазы и глутатионтрансферазы — ферментов, ответственных за детоксикацию афлатоксина B_1 и его активных метаболитов. В опытах in vitro в препаратах печени радужной форели обнаружено достоверное возрастание скорости образования афлатоксикола [Stott W., Sinnhuber R., 1978]. Эти данные подчеркивают наличие единых механизмов метаболической активации афлатоксинов в печени как млекопитающих, так и рыб, необходимых для реализации канцерогенного эффекта.

Почти отсутствуют данные о влиянии углеводного компонента рациона на токсическое действие афлатоксинов. Длительное содержание крыс линии Sprague — Dawley на рационе с высоким уровнем сахарозы сопровождалось значительным уменьшением количества экскретируемого с мочой афлатоксина M_1, но не влияло на степень патологических изменений печени, вызванных афлатоксином B_1 [Wise A. et al., 1978]. Предполагают, что это является следствием снижения активности микросомных ферментов

В единичных исследованиях показано, что увеличение квоты жиров в рационе снижает летальность при остром афлатоксикозе у цыплят, индюшат и крыс, уменьшает антикоагулянтное действие афлатоксина B_1 у обезьян, а также канцерогенное действие у крыс [Hamilton P. et al., 1972; Tung H. et al., 1972; Bassir O., Alozie T., 1979; Rogers A. et al., 1980]. При снижении концентрации в рационе незаменимых жирных кислот наблюдалось выраженное усиление как токсического, так и канцерогенного действия афлатоксина B_1 на крыс [Alfin-Slater R. et al., 1975].

Среди других алиментарных факторов, способных изменять биологическую активность афлатоксинов, следует выделить липотропные вещества, некоторые витамины и микроэлементы. При оценке влияния липотропных веществ на афлатоксикозы у крыс было показано, что рационы с предельно ограниченным содержанием метионина и холина (0,2%), не содержащие фолиевую кислоту, но отличающиеся высоким уровнем жира (32%), снижали острое токсическое действие афлатоксина B_1 при однократном введении в дозе 7—9 мг на 1 кг массы тела [Rogers A., Newberne P., 1971]. Уменьшение количества липотропных веществ в рационе полностью предотвращало гибель самцов крыс линий Sprague — Dawley и Fischer при любом способе введения высоких доз афлатоксина B_1. В то же время длительное (в течение 7 нед) введение афлатоксина B_1 в суммарной дозе 375 мкг крысам линии Fischer, получавшим дефицитный по фолиевой кислоте и холину, но с 30% жира рацион, сопровождалось усилением канцерогенного действия афлатоксина B_1. Количество животных, у которых к 90-й неделе опыта выявляли гепатомы, составляло 82% (15% в контрольной группе) [Rogers A. et al., 1980]. Введение крысам линии Fischer афлатоксина B_1 в той же дозе, но при полном отсутствии холина и витамина B_{12} в рационе приводило к возникновению опухолей у 60% животных через 21 мес после начала эксперимента. В группе крыс, находившихся на рационе со сниженным содержанием липотропных веществ, частота обнаружения опухолей печени к этому сроку составила 100% [Rogers A., Newberne P., 1969].

Имеются данные об усилении хронического афлатоксикоза у кроликов при введении им метионина [Clark J. et al., 1982].

Заслуживают внимания данные о влиянии витамина B_{12}, обладающего липотропными свойствами, на биологическую активность афлатоксинов. P. Temcharoen и соавт. (1978) убедительно показа-

ли, что это вещество значительно усиливает канцерогенное действие афлатоксинов на крыс.

Значительное число работ посвящено изучению влияния на токсические эффекты афлатоксинов других витаминов. У крыс, содержавшихся в течение 9 нед на дефицитном по витамину А рационе, однократное введение смеси афлатоксинов B_1, B_2, G и G_2 в дозе 3,5 мг/кг приводило к гибели всех животных, в то время как на полноценном рационе при той же дозе афлатоксинов все животные выживали. Весьма важно, что усиление острого токсического действия афлатоксина B_1 наблюдали только у самцов с гиповитаминозом А. У самок с гиповитаминозом А, так же как и у контрольных животных, симптомов афлатоксикоза не было, а морфологические изменения в печени были минимальными [Reddy G. et al., 1973]. При длительном введении афлатоксина B_1 с кормом на фоне недостаточности витамина А в рационе частота возникновения опухолей печени у крыс обоего пола не отличалась от таковой у особей, получавших полноценный рацион (3 мкг витамина А на 1 кг корма, 0,3 мкг/кг — в эксперименте). В то же время при недостаточности витамина А в несколько раз возрастала частота опухолей толстой кишки. Избыток витамина А в рационе (30 мкг на 1 кг корма) не оказывал какого-либо влияния на канцерогенную активность афлатоксина [Newberen P., Suphakarn V., 1977].

Усиление токсического действия афлатоксина B_1 наблюдали у цыплят как при авитаминозе, так и при гипервитаминозе А [Bryden W. et al., 1979]. У крыс линии Wistar, морских свинок и кроликов антикоагулянтное действие этого токсина усиливалось при недостаточности витамина А, а дополнительное внутримышечное введение ретинола телятам уменьшало степень коагулопатии, вызванной афлатоксином B_1 [Upcott D., 1970; Bassir O. et al., 1980]. В опытах in vitro ретинол подавлял пропорционально его концентрации мутагенную активность афлатоксина B_1 [Busk L., Ahlborg U., 1980].

Не обнаружено существенного влияния недостаточности витамина Е в рационе на степень выраженности клинических проявлений афлатоксикоза у цыплят, кур-несушек и крыс [Hamilton P., 1977; Frapo D. et al., 1981]. Содержание цыплят в течение 14 дней на рационе, лишенном витамина Е и селена, приводило к значительному усилению способности афлатоксина B_1 связываться с нуклеиновыми кислотами гепатоцитов [Chen J. et al., 1982]. Недостаточность холекальциферола (витамина D_3) усиливала токсическое действие афлатоксина на цыплят, а дополнительное введение витамина К уменьшало симптомы афлатоксикоза у крыс [Hamilton P. et al., 1974; Hamilton P., 1977]. Рационы, дефицитные по рибофлавину (витамин B_6), увеличивали чувствительность цыплят к действию низких доз афлатоксина, а дополнительное введение рибофлавина значительно снижало токсическое действие афлатоксина B_1 на индюшат [Hamilton P., 1977].

Недостаточность в рационе тиамина (витамин B_1) повышала

устойчивость цыплят к действию токсических доз афлатоксина [Hamilton P. et al., 1974]. Предполагают, что недостаточность тиамина стимулирует липидный обмен, в частности, процесс утилизации липидов из жировых депо. Этот вывод хорошо согласуется с приведенными выше данными о выраженном защитном действии высокожировых рационов при остром и хроническом афлатоксикозе.

Несомненный интерес представляют данные о влиянии обеспеченности организма витамином С на чувствительность животных к афлатоксинам, так как аскорбиновая кислота играет важную роль в регуляции каталитических свойств цитохрома Р-450 — ведущего компонента ферментной системы, ответственной за биотрансформацию чужеродных веществ в клетке. При содержании морских свинок и крыс линии Wistar в условиях недостаточности или избытка (5,4 мг на 1 мл питьевой воды) витамина С в субклеточных фракциях печени обнаружено подавление скорости метаболических превращений (деметилирования и гидроксилирования) афлатоксинов B_1 и G_1 [Okoye Z. et al., 1980; Domngang F., Bassir O., 1981; Domngang F., Emerole G., 1982].

Некоторые эссенциальные микронутриенты, такие как селен, медь, цинк, могут также существенно влиять на чувствительность животных к токсическому действию афлатоксинов. У хомячков, длительное время получавших с кормом смесь афлатоксинов в концентрации 22 мг/кг, дополнительное включение в рацион 0,5% ацетата меди приводило к повышению выживаемости и прироста массы тела, уменьшению патологических изменений в печени [Llewellyn G. et al., 1981]. У свиней добавление к корму меди в количестве 250 мг/кг также сопровождалось увеличением привесов, сниженных вследствие токсического действия загрязненных афлатоксином B_1 кормов [Barber R. et al., 1968]. Избыток цинка в рационе монгольской песчанки предотвращал развитие гистопатологических изменений в печени, характерных для острого афлатоксикоза [Llewellyn G. et al., 1980]. Включение селена или его солей в рационы индюшат, крыс и монгольских песчанок сопровождалось снижением смертности животных и выраженности биохимических изменений, а также тяжести повреждений печени, вызванных афлатоксином B_1 [Newberne P., Conner M., 1974; Lalor J., Llewellyn G., 1981; Burguera J. et al., 1983]. Селен предотвращал цитотоксическое действие афлатоксина B_1 на культуру лимфоцитов, а также уменьшал эмбриотоксическое и тератогенное действие афлатоксина B_1 на Xenopus lalvis [Aleksandrowicz J. et al., 1975].

В последние годы возросло внимание к поиску природных веществ, специфически влияющих на биологическую активность афлатоксинов. J. Boyd и соавт. (1979, 1983) показали, что некоторые овощи (тыква, зеленая фасоль и особенно свекла) содержат неидентифицированные факторы, усиливающие канцерогенное действие афлатоксина B_1 на крыс. В то же время в капусте обычной и цветной есть вещества, подавляющие индукцию гепатокар-

цином афлатоксином. Циклопропанкарбоновые кислоты, содержащиеся в некоторых растительных продуктах, стимулируют канцерогенное действие афлатоксинов B_1 и M_1 на радужную форель [Sinnhuber R. et al., 1968, 1974; Bailey G. et al., 1982]. Включение в корм цыплят-бройлеров таниновой кислоты или особого сорта сорго с высоким содержанием танина усиливало токсическое действие афлатоксина [Dale N. et al., 1980]. У крыс, в течение длительного времени получавших с кормом афлатоксин B_1, дополнительное включение в корм различных пищевых волокон сопровождалось снижением частоты возникновения опухолей. При этом наиболее выраженным защитным действием обладали пшеничные отруби. В основе обнаруженного эффекта лежат, по-видимому, адсорбция токсина на пищевых волокнах и последующее его ускоренное выведение из организма [Frape D et al. 1981].

В некоторых исследованиях наблюдали усиление токсического действия афлатоксина B_1 у крыс, которым предварительно вводили этанол. Показано, в частности, что этанол способствует ускорению метаболизма афлатоксина B_1 как in vivo, так и in vitro [Glinsukon T. et al., 1978; Toskulkao C. et al., 1982].

Заслуживают внимания данные о комбинированном действии различных микотоксинов. Это тем более важно, если учесть возможность одновременного заражения пищевых продуктов или кормов различными видами токсигенных микроскопических грибов, продуцирующих различные микотоксины. Показано, например, что при сочетанном введении афлатоксина B_1 и охратоксина А цыплятам-бройлерам и крысам или афлатоксина B_1 и рубратоксина В крысам токсическое действие ядов значительно усиливается [Hayes A. et al., 1977; Huff W., Doerr J., 1981; Rati E. et al., 1981; Ghosh J. et al., 1983].

Итак, мы рассмотрели имеющиеся сведения о факторах, модифицирующих биологическую активность афлатоксинов. Полностью исключить загрязнение кормов афлатоксинами — задача практически мало выполнимая; постоянно существует опасность поступления незначительных количеств токсинов с кормами. Именно поэтому поиск факторов, модифицирующих биологическую активность афлатоксинов, является одним из возможных путей защиты организма от неблагоприятных воздействий этих агентов. Представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что наиболее эффективными в этом плане факторами являются факторы питания, способные существенно изменять токсические и канцерогенные свойства афлатоксинов. В основе модифицирующего действия алиментарных факторов лежат в первую очередь изменение метаболизма афлатоксинов в организме, а также изменение скорости всасывания, трансмембранного и внутриклеточного транспорта токсинов, активности микрофлоры кишечника.

МЕТАБОЛИЗМ АФЛАТОКСИНОВ

Основным путем поступления афлатоксинов в организм является алиментарный путь — через желудочно-кишечный тракт. Изучение скорости метаболизма наиболее токсичного представителя этой группы микотоксинов афлатоксина B_1 у различных видов животных показало, что период его полужизни в организме составляет 12—15 ч [Mabee M., Chipley J., 1973].

Тканевое и внутриклеточное распределение афлатоксинов, экскреция. Независимо от путей введения афлатоксин B_1 быстро обнаруживается в печени. У крыс уже через 30 мин после введения per os в значительных количествах он определяется в печени, где его концентрация достигает максимального уровня через 2 ч [Butler W., Clifford J., 1965]. С помощью высокочувствительного иммуноферментного метода было показано, что при внутрибрюшинном введении афлатоксина B_1 через 2 ч он локализуется главным образом в гепатоцитах, расположенных в перипортальной зоне и реже в клетках, прилегающих к центральной вене. Звездчатые ретикулоэндотелиоциты, содержащие афлатоксин, выявлялись только в перипортальной зоне [Pestka J. et al., 1983]. При внутрибрюшинном введении ^{14}[C]-афлатоксина B_1 крысам высокий уровень радиоактивности в первые 2—4 ч был обнаружен в печени, почках, надпочечниках и селезенке. На всех сроках исследования концентрация афлатоксина в печени значительно превышала его содержание в других органах. Так, к 24-му часу в печени определяли 7,7% введенной дозы токсина, в то время как в других тканях — менее 0,1% [Wogan G., 1969]. Максимальное количество внутрибрюшинно введенного ^{14}[C]-афлатоксина G_1 также выявляли в печени крыс через 2 ч после инъекции [Garner R. et al., 1979].

Близкие данные были получены в опытах на мышах, поросятах, хомячках, норках, цыплятах и обезьянах [Dalezios J., Wogan G., 1972; Mabee M., Chipley J., 1973; Chou C.-C., Marth E., 1976; Lüthy J. et al., 1980]. В частности, у обезьян через 45 мин после введения ^{14}[C]-афлатоксина B_1 в печени обнаруживали 19% введенной дозы, а в других органах — менее 1%; через 24 ч содержание токсина в печени составляло 8,3%, а в других органах — менее 0,1%. У норок, отличающихся высокой чувствительностью к действию афлатоксинов, через час после введения меченого афлатоксина B_1 максимальный уровень радиоактивности выявлялся в содержимом кишечника (18,9%) и в печени (13,2%), а в остальных органах — только 1%; через 24 ч в печени сохранялось до 6,8% метки, а в других органах — менее 1%. У мышей, отличающихся высокой резистентностью к действию афлатоксинов, через 24 ч в печени выявлялось только 1,5% введенного количества афлатоксина B_1 [Wogan G., 1969]. При внутрибрюшинной инъекции ^{14}[C]-афлатоксина B_1 мышам уже через 5 мин уровень радиоактивности был максимальным в печени и желчи [Arora R. et al., 1978].

При изучении динамики внутриклеточного распределения ^{14}[C]-афлатоксина B_1 в печени крыс было показано, что в первые 30 мин после введения основная часть токсина связалась с фракцией цитозоля, через 2 ч увеличилось количество токсина во фракции микросом, а к 24-му часу 50% токсина было уже связано с микросомами и только около 30% оставалось в цитозоле [Wogan G., 1969]. В то же время J. Pestka и соавт (1983) в опытах со срезами печени крыс, получавших афлатоксин B_1, с помощью иммуноферментного метода выявили преимущественное связывание яда с ядрами гепатоцитов. K. Mainigi (1983) через 3 ч после введения крысам ^{3}[H]-афлатоксина B_1 также обнаружил его максимальное количество в ядрах клеток печени (28,9 нг на 1 мг белка), а во фракции микросом и цитозоле концентрация токсина была значительно ниже (соответственно 17,7 и 6,8 нг на 1 мг белка). В почках уровень меченого афлатоксина также оказался наибольшим в ядрах (9,5 нг на 1 мг белка).

При исследовании распределения афлатоксина в печени норки через час после его введения бо́льшая часть определялась в цитозоле. Ядра, митохондрии и микросомы связывали соответственно 25, 14 и 16% обнаруживаемого в печени токсина. Через 24 ч концентрация афлатоксина несколько возрастала во фракциях митохондрий и микросом, но оставалась наиболее высокой в цитозоле, где выявлялось около 37% меченого токсина [Chou C.-C., Marth E., 1976].

Основным путем выведения афлатоксинов (так же как и метаболитов) из организма является экскреция их с желчью. У крыс, мышей и цыплят афлатоксины выявляли в желчи уже через 5 мин после введения, а максимальным их уровень был через 30—45 мин [Wogan G., 1969; Harland E., Cardeilhac P., 1975]. В опытах с изолированной перфузируемой печенью крыс также показано, что максимальная экскреция меченых афлатоксинов с желчью происходит в течение первых 30 мин. В этот период концентрация метаболитов афлатоксина в желчи была в 314 раз выше, чем в перфузате, и в 6 раз выше, чем в ткани печени [Unger P. et al., 1977]. При однократном введении цыплятам ^{14}[C]-афлатоксина B_1 70% выделенной из организма за 315 мин метки экскретировалось с желчью. Максимальная концентрация афлатоксина в желчи, определяемая через 40 мин, в 7 раз превышала наибольший уровень радиоактивности в плазме крови [Harland E., Cardeilhac P., 1975]. У крыс в течение первых 24 ч из организма выводилось 70—80% меченого афлатоксина B_1 и его метаболитов (с калом 50—60%, с мочой 20%). У мышей за 24 ч экскретировалось 89,9% исходной дозы ^{14}[C]-афлатоксина B_1 (с калом 55,7%, с мочой 34,5%). Аналогичные данные о скорости и уровне экскреции афлатоксинов из организма получены в опытах на норках, свиньях, перепелах и обезьянах [Wogan G., 1969; Dalezios J., Wogan G., 1972; Chou C.-C., Marth E., 1976; Lüthy J. et al., 1980; Dashek W. et al., 1982].

Небольшие количества афлатоксина B_1, главным образом в

виде его метаболита афлатоксина M_1, могут выводиться с молоком. Анализируя различные данные, можно заключить, что количество афлатоксина M_1, выделяемое с молоком, не превышает 1—3% от первоначальной дозы афлатоксина B_1. Афлатоксин M_1 как метаболит афлатоксина B_1 обнаружен в молоке коров, овец, коз, некоторых лабораторных животных (крыс, мышей) и, что особенно важно, в молоке кормящих женщин, употреблявших в пищу арахисовое масло, загрязненное афлатоксином B_1 [Campbell T. et al., 1970].

В табл. 10 суммированы данные о содержании в тканях и биологических жидкостях метаболитов афлатоксинов у различных видов животных и у человека. Обращает на себя внимание то, что в молоке некоторых видов животных, помимо афлатоксина M_1, может определяться и исходный афлатоксин B_1; для печени, почек, а также мочи характерно присутствие большого числа различных метаболитов, в то время как в кале часто обнаруживаются конъюгированные формы афлатоксинов.

Пути превращения афлатоксинов. Как уже отмечалось, афлатоксины поступают в организм в основном путем всасывания из желудочно-кишечного тракта и через воротную вену попадают в печень, где и осуществляется процесс их биотрансформации. Продукты метаболизма афлатоксинов выделяются в желчь и выводятся с фекалиями или поступают в почки и выводятся с мочой. Собственно процесс биотрансформации афлатоксинов в животном организме осуществляется в два этапа: метаболизации и конъюгации. На этапе метаболических превращений под действием соответствующих ферментов они окисляются, восстанавливаются, гидролизуются и т. д., что приводит к появлению функциональных группировок в их молекулах, повышающих полярность и являющихся центрами для последующей стадии — конъюгации, т. е. соединения с такими эндогенными веществами, как глюкуроновая и серная кислоты, глутатион и др. При этом молекула афлатоксина делается еще более полярной, ее растворимость в липидной фазе уменьшается и она легко выводится из организма. Следует иметь в виду, что конъюгация ведет к блокированию функциональных групп молекулы афлатоксина (например, OH-группы), ее дезактивации и тем самым снижению токсических свойств. В процессе метаболических превращений в молекуле афлатоксина обычно появляются новые функциональные группы, которые, как правило, приводят к потере токсических свойств. Однако, и это представляется исключительно важным, иногда в процессе метаболизма образуются соединения, обладающие, наоборот, более выраженными токсическими свойствами. Это явление называется метаболической активацией, или токсификацией [Арчаков А. И., 1975; Тутельян В. А., Кравченко Л. В., 1981; Головенко Н. Я., Карасева Т. Л., 1983; Parke D., 1973].

Результаты многочисленных исследований, выполненных как in vivo, так и in vitro с использованием гомогенатов и микросомных фракций печени различных видов животных и человека,

Таблица 10. Содержание метаболитов в тканях и биологических жидкостях различных видов животных и человека после введения им афлатоксинов *

Вид животных, человек	Молоко	Моча	Кал	Кровь	Ткани
Утята			КФ**	B_1	M_1 (печень)
Цыплята		B_1, B_2, M_1, B_{2a}, КФ	КФ		M_1 (печень) B_{2a}, B_1, КФ (печень, мышцы)
Перепела		P_1, Q_1		B_1, афлатоксикол	M_1, B_{2a} (печень)
Овцы	M_1, B_1, G_1	M_1, B_1, G_1	M_1, B, G_1		B_1, M_1, M. (печень, почки)
Крупный рогатый скот	M_1	B_1, M_1	B_1, M		B_1, B_2, G_1, G_2, M_1 (печень, почки, селезенка, поджелудочная железа, мышцы)
Свиньи		B_1, M_1, афлатоксикол	B_1, M_1, афлатоксикол	B_1	B_1, B_2, M_1, M_2, афлатоксикол (печень, почки, селезенка, мышцы)
Кролики		M_1		B_1	M_1 (печень, почки)
Морские свинки		B_1, M_1			M_1 (печень)
Крысы	B_1, M_1	B_1, M_1, B_{2a}, P_1, Q_1	M_1	B_1, M_1, афлатоксикол	B_1, M_1 (печень)
Мыши	M_1	M_1			M_1 (печень)
Обезьяны		B_1, M_1, P_1, Q_1	P_1		B_1 (печень)
Человек	M_1	B_1, M_1	B_1		B_1 (печень)

* По данным А. А. Покровского и соавт. (1977); T. Campbell и соавт. (1970) R. Dann и соавт. (1972), T. Campbell, J. Hayes (1976); D. Patterson (1976); G. Edds (1979); J. Lüthy и соавт. (1980)

** КФ — конъюгированные формы афлатоксинов.

полностью доказали, что метаболизм афлатоксинов осуществляется при участии тех же ферментных систем, что и других ксенобиотиков [Тутельян В. А., Кравченко Л. В., 1981; Shank R., 1977; Decad G. et al., 1979; Swenson D., 1981; Hsieh D., Wong J., 1982, и др.]. Большинство метаболических превращений афлатоксинов катализируется монооксигеназами, локализованными в мембранах эндоплазматического ретикулума. В общем виде многочисленные реакции гидроксилирования, осуществляемые при участии этих

ферментных систем, могут быть представлены следующим образом:

$$RH+NADPH+H^{+}+O_2 \longrightarrow ROH+NADP^{+}+H_2O.$$

Эти реакции протекают по монооксигеназному типу, т. е. один из атомов активированного молекулярного кислорода присоединяется к субстрату, а второй — восстанавливается с образованием воды. Активация молекулярного кислорода осуществляется в мембранах эндоплазматического ретикулума при участии цитохрома Р-450, а донором электронов в этих реакциях служит восстановленный NADPH [Арчаков А. И., 1975].

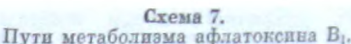
Рассмотрим метаболические превращения основных представителей семейства афлатоксинов — B_1, B_2, G_1 и G_2.

Афлатоксин B_1

Доказано, что метаболические превращения афлатоксина B_1 при участии микросомных монооксигеназ могут протекать по типу гидроксилирования в 4- или 22-м положениях с образованием афлатоксинов соответственно M_1 и Q_1; по типу О-деметилирования с образованием афлатоксина P_1; путем гидратации двойной винильной связи с образованием афлатоксина B_{2a} и путем эпоксидирования в 2,3-положении с образованием 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. Кроме этого, при участии NADPH-зависимой дегидрогеназы, локализованной в цитозоле, афлатоксин B_1 может восстанавливаться до афлатоксикола (схема 7). Все перечисленные метаболиты афлатоксина B_1, за исключением эпоксида, выделены и подробно изучены. Все они содержат гидроксильную группу и могут вступать в реакции конъюгации с глюкуроновой кислотой, сульфатами или SH-глутатионом. Эти реакции катализируются ферментами второй фазы метаболизма ксенобиотиков — UDP-глюкуронозил-, сульфат- и глутатионтрансферазой.

Афлатоксин M_1, первый из идентифицированных метаболитов афлатоксина B_1, был обнаружен в молоке коров. Для большинства биологических видов он является одним из основных метаболитов афлатоксина B_1, обнаруживаемых в молоке, моче, печени и других тканях. У мышей, крыс и овец афлатоксин M_1, экскретируемый с молоком, мочой и желчью, составляет около 8% первоначально введенного афлатоксина B_1 [Shank R., 1977]. У поросят, получавших афлатоксин B_1, с мочой и желчью выводится в виде афлатоксина M_1 1—3% исходной дозы [Lüthy J. et al., 1980]. Эти величины близки данным, полученным в экспериментах на коровах, овцах и баранах (4—9%), но значительно ниже, чем у обезьян — около 20% [Dalezios J. et al., 1973]. Интересно, что у поросят афлатоксин M_1 появлялся в моче в минимальном количестве (0,05 мкг/л) при поступлении афлатоксина B_1 в концентрации всего 0,4—0,9 мкг на 1 кг массы тела [Tang S.-Y. et al., 1980]. Можно согласиться с выводом авторов о возможности определения этого токсина в моче для диагностики алиментарных микотоксикозов у людей и животных, вызванных афлатоксином B_1. По данным Т. Campbell и соавт. (1970), у человека

Схема 7.
Пути метаболизма афлатоксина B_1.



около 4% поступившего с пищей афлатоксина B_1 выделяется с мочой в виде афлатоксина M_1. У утят, получавших в течение 14 дней меченый афлатоксин B_1, 23% всех метаболитов, выявленных в различных органах и тканях, составляли глюкурониды афлатоксина M_1 [Mabee M., Chipley J., 1973].

Образование афлатоксина M_1 как основного метаболита афлатоксина B_1 доказано также in vitro в исследованиях с изолированной перфузируемой печенью, на культурах гепатоцитов, фракци-

ях микросом печени различных видов животных [Portman R. et al., 1968; Unger P. et al., 1977; Decad C. et al., 1977; Rice D., Hsieh D., 1982]. Так, в изолированной перфузируемой печени крыс через 90 мин после введения в перфузат афлатоксина B_1 35% метаболитов, определяемых в желчи, приходилось на афлатоксин M_1. Микросомы, выделенные из печени коровы, овцы, свиньи, собаки, хомячка и крысы, в присутствии NADPH-генерирующей системы, в течение 60 мин инкубации превращали соответственно 1; 0,5; 0,1; 3,4; 2,7 и 4,0% афлатоксина B_1 в афлатоксин M_1 [Rice D., Hsieh D., 1982].

Афлатоксин M_1 является самым токсичным метаболитом афлатоксина B_1. В остром опыте его действие на крыс приравнивается к действию афлатоксина B_1, однако его мутагенная активность значительно ниже и составляет всего около $^1/_{10}$ активности афлатоксина B_1. Значительно (примерно в 3 раза) слабее и его канцерогенное действие на радужную форель [Campbell T., Hayes J., 1976].

Афлатоксин M_1 может подвергаться восстановлению при участии ферментов цитозоля с образованием афлатоксикола M_1 [Salhab A. et al., 1977; Loveland et al., 1984]. Афлатоксикол M_1 может быть также получен при окислении афлатоксикола при участии микросомных монооксигеназ. Токсичность и канцерогенные свойства афлатоксикола M_1 не изучены.

Афлатоксин Q_1 является основным метаболитом афлатоксина B_1, образуемым in vitro препаратами микросом печени обезьян и человека [Masri M. et al., 1974]. В отличие от афлатоксина M_1 он содержит гидроксильную группу у углерода, расположенного в β-положении циклопентенона. Показано, что ферментные системы, катализирующие образование афлатоксина Q_1, связаны с цитохромом Р-450, в то время как гидроксилирование афлатоксина B_1 с образованием афлатоксина M_1 осуществляется при участии цитохрома Р-448 [Gurtoo H., Dahms R., 1979; Metcalfe S. et al., 1981]. Так, в микросомах, выделенных из печени крыс, которым вводили фенобарбитал — индуктор цитохром Р-450-зависимой системы окисления, — скорость образования афлатоксина Q_1 возрастала в $5^1/_2$, а афлатоксина M_1 — только в 2 раза. В микросомах печени крыс, которым предварительно вводили 3-метилхолантрен — индуктор цитохром Р-448-зависимой системы окисления, — скорость синтеза афлатоксина Q_1 не изменялась, в то время как количество продуцируемого афлатоксина M_1 увеличивалось более чем в 10 раз [Metcalfe S. et al., 1981].

У различных видов животных выявлены существенные отличия в скорости превращения афлатоксина B_1 в афлатоксин Q_1. В системе in vitro, включающей фракции микросом из печени обезьян, 32,4—52,9% афлатоксина B_1 превращалось в афлатоксин Q_1 [Hsieh D. et al., 1974; Krieger R. et al., 1975; Masri M. et al., 1979]. В то же время в системе, содержащей микросомы из печени крыс и цыплят, в афлатоксин Q_1 превращалось только соответственно 1,9 и 0,06—0,14% афлатоксина B_1 [Masri M. et al.,

1974]. Следует подчеркнуть, что окисление афлатоксина B_1 в афлатоксин Q_1 с высокой скоростью наблюдалось и в аутопсийном материале печени человека [Masri M. et al., 1979].

Афлатоксин Q_1 значительно менее токсичен, чем афлатоксин B_1. При использовании в качестве тест-объектов куриных эмбрионов его токсичность составляла всего $^1/_{18}$ токсичности афлатоксина B_1. Мутагенные свойства афлатоксина Q_1 после его предварительной активации микросомами печени, так же как и его канцерогенная активность по отношению к радужной форели, были примерно в 100 раз менее выраженными, чем у афлатоксина B_1.

Восстановление карбоксильной группы циклопентенона афлатоксина Q_1 приводит к образованию афлатоксикола. Реакцию катализируют NADPH-зависимые ферменты цитозоля [Salhab A., Edwards G., 1977]. Афлатоксикол H_1 может быть и продуктом гидроксилирования афлатоксикола, однако возможность этого пути не доказана.

Афлатоксин P_1, продукт деметилирования афлатоксина B_1, был выделен из мочи обезьян [Dalezios J. et al., 1971; Dalezios J., Wogan G., 1972]. Он составлял около 20% общей введенной дозы афлатоксина B_1. При этом было показано, что афлатоксин P_1 выделяется главным образом в виде глюкуронидов и сульфатов. В исследованиях in vitro с препаратами печени грызунов, овцы, радужной форели, цыплят, обезьян и человека этот токсин был обнаружен как минорный метаболит афлатоксина B_1 [Patterson D., 1976]. Афлатоксин P_1 в 10—20 раз менее токсичен афлатоксина B_1 и не обладает мутагенными свойствами. Его канцерогенная активность не изучена [Shank R., 1977].

Афлатоксин B_{2a}, полуацеталь афлатоксина B_1, считается метаболитом, образующимся при участии микросомных монооксигеназ печени. Однако это до настоящего времени нельзя считать окончательно установленным, так как имеются данные, свидетельствующие о возможности превращения афлатоксина B_1 в афлатоксин B_{2a} в отсутствие микросомной фракции печени и кофакторов [Swenson D., 1981]. Образование афлатоксина B_{2a} обнаружено у некоторых грызунов и птиц как in vivo, так и in vitro [Patterson D., 1976].

Афлатоксин B_{2a} не токсичен, не обладает мутагенными и канцерогенными свойствами, но, по мнению многих авторов, может играть важную роль в проявлении биологической активности афлатоксина B_1, так как легко и прочно связывается с белками и пептидами. Возможность взаимодействия афлатоксина B_{2a} с белками предполагает образование в нейтральной и слабощелочной среде фенолят-иона, альдегидные группы которого ковалентно связываются с первичными аминогруппами белков и пептидов [Ashoor S., Chu F., 1975] (схема 8).

В последние годы высказывается предположение о том, что афлатоксин B_{2a} является лишь минорным метаболитом афлатоксина B_1, образующимся при участии микросомных ферментных систем и не играющим ведущей роли в проявлении биологической

Схема 8.
Взаимодействие активных метаболитов афлатоксина B_1 (афлатоксина B_{2a} и 2,3-дигидродиола афлатоксина B_1) с белками и пептидами ($R-NH_2$).

Афлатоксин B_{2a} — 2,3-Дигидродиол афлатоксина B_1

pH 7,4

Фенолят ионы

$R-NH_2$ pH 7,4

Шиффовы основания

активности афлатоксина B_1. Полагают, что в большинстве случаев за афлатоксин B_{2a} ошибочно принимается дигидродиол афлатоксина B_1 (2,3-дигидро-2,3-дигидрокси-афлатоксин B_1), имеющий с ним идентичные спектры поглощения и аналогичным способом образующий аддукты с белками [Neal G., Colley P., 1979; Neal G. et al., 1981; Hsieh D., Wong J., 1982].

Дигидродиол афлатоксина B_1 образуется из 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. Участие микросомной эпоксидгидролазы в осуществлении этой реакции до конца не ясно, так как полученные данные противоречивы. С одной стороны, в исследованиях in vitro не было обнаружено какого-либо влияния ингибиторов эпоксидгидролазы, циклогексеноксида и 1,1,1-трихлорпропаноокси-

да на уровень дигидродиола и 2,3-эпоксида [Lin J. et al., 1978]. С другой стороны, при использовании культуры гепатоцитов мыши и крысы добавление в культуральную среду циклогексеноксида сопровождалось значительным подавлением образования аддуктов афлатоксина B_1 с макромолекулами клеток [Decad G. et al., 1979]. Возможно, противоречивость полученных результатов является следствием существенных различий в активности эпоксидгидролазы в интактных клетках и выделенных препаратах микросом.

Дигидродиол афлатоксина B_1 не токсичен, не обладает мутагенными и канцерогенными свойствами [Coles B. et al., 1980]. Тем не менее он так же как и афлатоксин B_{2a} может играть ведущую роль в механизме острого токсического действия афлатоксина B_1, так как может прочно связываться с белками клетки, в том числе и с ферментами [Swenson D. et al., 1975; Coles B. et al., 1980].

Значительный интерес представляют данные об определенном параллелизме между способностью микросом печени различных видов животных превращать афлатоксин B_1 в дигидродиол афлатоксина B_1 и чувствительностью этих видов животных к острому токсическому действию афлатоксина B_1 [Neal G. et al., 1981; O'Brien K. et al., 1983]. Так, при инкубации микросом из печени крыс, мышей, морских свинок и цыплят с афлатоксином B_1 в присутствии NADPH-генерирующей системы, количество образующегося дигидродиола (в процентах от общего количества растворимых в метаноле метаболитов) составляло для этих животных соответственно 46; 18, более 99 и более 99%. В определенной степени это согласуется с приведенными выше сведениями о чувствительности к афлатоксину B_1 указанных животных.

Как уже отмечалось, дигидродиол афлатоксина B_1 по своим химическим свойствам весьма похож на афлатоксин B_{2a} [Neal G., Colley P., 1979; Hsieh D., Wong J., 1982]. Полагают, что в физиологических условиях дигидродиол образует диальдегидный фенолят-ион, который легко вступает в реакцию с первичными аминогруппами белков, образуя шиффово основание. При этом спектральные характеристики полученного аддукта идентичны таковым аддуктов афлатоксина B_{2a} с белками [Swenson D. et al., 1975]. Дигидродиол афлатоксина B_1 может ковалентно связываться и с ДНК, но в значительно меньшей степени, чем с белками [Coles B. et al., 1980]. Природа связи его с ДНК не изучена, однако предполагают, что при этом образуется шиффово основание между альдегидными группами фенолят-иона и экзоциклическими аминогруппами оснований.

2,3-Эпоксид афлатоксина B_1 — гипотетическая активированная форма афлатоксина B_1, его главный канцерогенный метаболит. Ни в одном из экспериментов эпоксид афлатоксина B_1 не был выделен и до настоящего времени его не удалось получить синтетическим путем.

Впервые предположение о метаболической активации афлатоксинов B_1, G_1 и M_1 за счет образования соответствующих эпок-

сидов (как это было доказано для других канцерогенов) высказала R. Schoental (1970). В дальнейшем были получены косвенные доказательства возможности образования в организме 2,3-эпоксидов афлатоксинов. В частности, показано, что нетоксичный для Salmonella typhimurium афлатоксин B_1 в присутствии микросом из печени крыс и NADPH-генерирующей системы в течение 2 мин приводил к гибели почти всех бактерий [Garner R. et al., 1972]. На этой же модели было доказано, что, кроме афлатоксина B_1, афлатоксин G_1 и стеригматоцистин также образуют более активные метаболиты при инкубации их с микросомами печени крыс, в то время как 2,3-дигидропроизводные афлатоксинов B_1 и G_1, афлатоксины B_2 и G_2, а также полуацеталь афлатоксина B_1, афлатоксин B_{2a} даже после инкубации с препаратами микросом печени не оказывали токсического действия на бактерии. Аналогичные результаты были получены при использовании микросом из печени других видов животных (мышей, морских свинок, хомячков, радужной форели), а также из печени человека. R. Garner (1973) удалось получить экспериментальные доказательства в пользу того, что образующийся активный метаболит афлатоксина B_1 представляет собой электрофильный реагент, способный связываться с нуклеиновыми кислотами и в меньшей степени с полинуклеотидами.

Позднее D. Swenson и соавт. (1975) синтезировали 2,3-дихлорид афлатоксина B_1 и использовали его в качестве реакционноспособной модели 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. Дихлорид имел электрофильный атом углерода во 2-м положении, так же как и предполагаемый эпоксид обладал выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами. Он слабо реагировал с аминокислотами и нуклеотидами, но активно образовывал ковалентно связанные аддукты как с нуклеиновыми кислотами, так и с белками [Fahmy M. et al., 1978]. К косвенным, но достаточно убедительным доказательствам существования 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 относится также обнаружение дигидродиола афлатоксина B_1 в качестве метаболита афлатоксина B_1 при его взаимодействии с микросомными монооксигеназами [Lin J. et al., 1980]. Следует учесть, что именно дигидродиол должен быть продуктом гидролиза эпоксида афлатоксина B_1. Кроме этого, дигидродиол афлатоксина B_1 был выделен как продукт гидролиза аддуктов афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами [Swenson D. et al., 1973, 1974, 1977].

Сама структура основных аддуктов афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами (см. схему 8) свидетельствует, что они должны образовываться в результате реакции, одним из компонентов которой является эпоксид. В пользу этого свидетельствует и то, что структура аддукта афлатоксина B_1 с нуклеиновой кислотой, выделенного после микросомного эпоксидирования афлатоксина B_1, идентична структуре аддукта, полученного в результате химического эпоксидирования токсина при участии m-хлорпадбензойной кислоты [Lin J. et al., 1977; Martin C., Garner R., 1977].

Большинство исследований было посвящено изучению способности монооксигеназной системы эндоплазматического ретикулума активировать афлатоксин B_1. Однако при этом возникает вопрос о том, каким образом этот предполагаемый весьма короткоживущий эпоксид афлатоксина B_1 успевает дойти от места своего образования в эндоплазматическом ретикулуме до места действия в ядре. В этом плане представляют интерес данные об участии ядерных компонентов в метаболизме афлатоксина B_1. Так, показано, что кинетические параметры монооксигеназной системы микросом и ядер очень близки и ядра печени крыс способны метаболизировать афлатоксин B_1 как в менее токсичные, так и в более активные соединения, ковалентно связывающиеся с ДНК [Vaught J. et al., 1977; Guengerich F., 1979; Yoshizawa et al., 1981]. Имеются также отдельные сообщения об образовании активной электрофильной формы афлатоксина B_1 в процессе его инкубации с митохондриями печени крыс. Митохондриальная монооксигеназная система, локализованная главным образом в матриксе митохондрий и активирующая афлатоксин B_1, обнаружена только в печени и почках. После инкубации удалось выделить аддукты афлатоксина B_1 с митохондриальными РНК (до 55% общего количества образованных аддуктов), белками (25%) и ДНК (15—20%) [Niranjan B., Avadhani N., 1980a, b].

2,3-Эпоксид афлатоксина B_1 является очень реакционноспособным соединением. Взаимодействуя с водой, он может легко и, по-видимому, без участия эпоксидгидролазы превращаться в дигидродиол афлатоксина B_1. Он может подвергаться детоксикации и путем конъюгации с SH-глутатионом. При этом глутатион является единственным низкомолекулярным соединением, с которым эпоксид активно реагирует с образованием 2,3-дигидро-2-(S-глутатионил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1 [Moss et al., 1983]. Реакцию катализирует глутатионтрансфераза [Degen G., Neumann H., 1978; Lotlikar P. et al., 1980]. В культуре гепатоцитов крыс уменьшение внутриклеточного уровня SH-глутатиона сопровождалось усилением образования аддуктов афлатоксина B_1, а снижение содержания SH-глутатиона в печени крыс, вызванное диэтилмалеатом, сопровождалось выраженным повышением гепатотоксического действия афлатоксина B_1 [Mgbodile M. et al., 1975; Decad G. et al., 1979]. В то же время в опытах на крысах, цыплятах и кроликах наблюдалось снижение токсического действия афлатоксина B_1 при введении животным SH-глутатиона, цистеина, а также веществ, усиливающих синтез эндогенного SH-глутатиона в печени (фенобарбитала, нитрата свинца или хлорида кобальта) [Corongin F., Milia A., 1982; Ademoyero A., Dalvi R., 1983; Dalvi R., Ademoyero A., 1984]. Весьма важно, что глутатион и другие тиоловые соединения предотвращали активацию афлатоксина B_1 in vitro и приводили к полной потере его мутагенной активности [Friedman M. et al., 1982].

Эпоксид афлатоксина B_1 взаимодействует с нуклеофильными участками молекул ДНК, РНК и белков, что приводит к тем

биохимическим нарушениям, которые лежат в основе токсического и главным образом канцерогенного действия. Следует отметить, что в отличие от других активных форм афлатоксина B_1 (афлатоксина B_{2a} и дигидродиола) эпоксид значительно активнее атакует нуклеиновые кислоты, чем белки. Например, в опытах на крысах обнаружено, что афлатоксин B_1 с РНК и ДНК связывается в 6—20 раз интенсивнее, чем с белками [Swenson D., 1981].

При взаимодействии 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 с ДНК электрофильный С-2 эпоксида вступает в реакцию с нуклеофильными участками молекулы ДНК, в частности гуанина и аденина. Менее вероятной представляется возможность взаимодействия эпоксида с первичными аминогруппами аминокислот. Доказано, что как in vivo, так и in vitro основным аддуктом афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами является 2,3-дигидро-2-(гуан-7-ил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1 (схема 9). Из минорных аддуктов идентифицирован 2,3-дигидро-2-(N^5-формил-2,5,6-триамино-4-оксипиримидин-N^5-ил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1, который в отличие от основного аддукта в слабокислой среде легко гидролизуется с образованием дигидродиола (см. схему 9). Основной аддукт составляет по разным данным от 60 до 90% общего количества образованных аддуктов афлатоксина B_1 с нуклеиновой кислотой. Однако даже при незначительном изменении pH среды в щелочную сторону происходят разрыв имидазольного кольца и образование минорного компонента. Другие аддукты афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами, в том числе и продукты его реакции с аденином не изучены [Martin C., Garner R., 1977; Lin J. et al., 1977; Essigman J. et al., 1977; Croy R. et al., 1978; Garner R. et al., 1979; Autrup H. et al., 1979, и др.].

Предполагают, что аддукты эпоксида афлатоксина B_1 с белками образуются в результате его взаимодействия с первичными аминогруппами (с образованием шиффова основания), а в некоторых случаях — в результате реакции С-2 эпоксида с кислородом, серой метионина и цистеина или N-3 и N-7 гистидина [Swenson D., 1981; Hsieh D., Wogn J., 1982].

Первичные аддукты афлатоксина B_1 с ДНК в физиологических условиях являются нестойкими соединениями. В экспериментах in vivo и in vitro на культурах клеток и тканей показано, что уже в течение первых 24 ч происходит освобождение большей части ДНК от афлатоксинов B_1 и G_1 [Autrup H. et al., 1979; Garner R. et al., 1979; Wang T., Cerutti P., 1979, 1980]. Период полужизни основного аддукта афлатоксина B_1 с ДНК в печени крыс и культуре фибробластов был одинаковым и составлял 12 ч [Wang T., Cerutti P., 1980; Groopman J. et al., 1980]. В культуре ткани бронха и толстой кишки человека даже через 5 дней после воздействия афлатоксина B_1 некоторое количество его оставалось связанным с ДНК [Autrup H. et al., 1979]. Большой интерес вызывает вопрос, за счет каких реакций осуществляется внутриклеточный распад аддуктов. Предполагают, что это спонтанно протекающие реакции: во-первых, реакции образования 2,3-дигидро-2-

Схема 9.
Взаимодействие активного метаболита афлатоксина B_1 (2,3-эпоксида афлатоксина B_1) с нуклеиновыми кислотами.

2,3-Эпоксид афлатоксина B_1

Основной аддукт афлатоксин B_1– ДНК (РНК)

H^+

2,3-Дигидро-2-(гуан-7-ил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1

pH>7,0

Минорный аддукт афлатоксин B_1 –ДНК (РНК)

H^+

2,3-Дигидро-2-(N^5-формил-2,5,6-триамино-4-оксипиримидин-N^5-ил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1

H^+

2,3-Дигидродиол афлатоксина B_1

(гуан-7-ил)-3-гидроксиафлатоксина B_1 и агуанинового участка ДНК; во-вторых, гидролитического раскрытия имидазольного кольца гуанина и образования более стабильного 2,3-дигидро-2-(N^5 - формил -2,5,6 - триамино-4-оксипиримидин-N^5-ил)-3-гидроксиафлатоксина B_1 и, в-третьих, образования дигидродиола афлатоксина B_1 и восстановления гуанинового остатка [Wang T., Cerutti P., 1980].

У крыс в течение 48 ч после введения афлатоксина B_1 с мочой экскретируется 2,3-дигидро-2-(гуан-7-ил)-3-гидрокси-афлатоксин B_1 в количестве 30—40% суммарного уровня аддуктов афлатоксина B_1 с ДНК в печени [Bennett R. et al., 1981].

Таким образом, полученные экспериментальные данные служат убедительным доказательством в пользу важной роли ковалентного связывания 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами и белками в проявлении биологической активности афлатоксина B_1.

Афлатоксикол — продукт обратимого восстановления афлатоксина B_1, катализируемого локализованной в цитозоле NADPH-зависимой дегидрогеназой. В многочисленных исследованиях показано, что ферменты цитозоля печени некоторых видов млекопитающих, птиц и рыб активно восстанавливают афлатоксин B_1 в афлатоксикол [Salhab A., Edwarda G., 1977; Shank R., 1977; Lovelend et al., 1984]. Z. Wong и D. Hsieh (1978, 1980) доказали, что именно афлатоксикол является основным метаболитом афлатоксина B_1 в плазме крови крыс. У животных, отличающихся меньшей чувствительностью к афлатоксину B_1 (обезьян и мышей), афлатоксикол в плазме крови не обнаруживается. Превращение афлатоксина B_1 в афлатоксикол наблюдается и непосредственно в крови различных животных. Так, в крови крыс, мышей, хомячков и монгольской песчанки может осуществляться интенсивное взаимопревращение афлатоксина B_1 в афлатоксикол и наоборот. Однако в крови морских свинок, обезьян и человека эти реакции протекают на очень низком уровне. Реакция взаимопревращения зависит от ферментов, не зависит от пола животных, но с увеличением их возраста отмечается выраженный сдвиг реакции в сторону образования афлатоксина B_1. Установлено, что взаимопревращения афлатоксин B_1 — афлатоксикол происходят в эритроцитах [Kumagai S. et al., 1983]. При этом способность крови к метаболическому превращению афлатоксина B_1 в афлатоксикол в значительной степени определяет его токсичность.

T. Eisele и соавт. (1982) отметили повышенную способность ферментных систем печени кроликов и радужной форели превращать афлатоксин B_1 в афлатоксикол, а также осуществлять реакцию и в обратном направлении. Полагают, что это является одной из ведущих причин высокой чувствительности указанных видов животных к афлатоксинам. Образование афлатоксикола из афлатоксина B_1 наблюдали в гомогенатах легких мышей и крыс, но не обнаруживали в гомогенатах печени этих животных [Emerole G., Thabrew M., 1981]. В пользу предположения о зависимости чувствительности животных к токсическому действию афлатоксинов от интенсивности реакции афлатоксин B_1 — афлатоксикол свидетельствуют и данные, полученные P. Billings и соавт. (1982). Они показали, что клетки гепатомы крыс FAO-1 в 50 раз более чувствительны к действию афлатоксина B_1 по сравнению с клетками гепатомы крыс FU-5. При этом основным метаболитом афлатоксина B_1 в клетках FAO-1 был афлатоксикол, а в

клетках FU-5 количество образующегося афлатоксикола было незначительным.

Как уже отмечалось, афлатоксикол легко превращается вновь в афлатоксин B_1. Реакцию катализируют микросомные ферментные системы, не включающие цитохром P-450 [Salhab A., Edwards G., 1977]. Это взаимопревращение дает основание многим исследователям рассматривать афлатоксикол как резервную форму афлатоксина B_1 в организме.

Афлатоксикол индуцирует развитие опухолей печени у крыс и радужной форели, обладает мутагенной активностью, но в меньшей степени, чем афлатоксин B_1. Его гепатотоксическое действие на однодневных цыплят в 18 раз слабее, чем у афлатоксина B_1 [Shank R., 1977; Schoehard G. et al., 1981; Nixon J. et al., 1981]. Важно, что способность организма животных превращать афлатоксин B_1 в афлатоксикол коррелирует с их чувствительностью как к острому токсическому, так и канцерогенному действию афлатоксина B_1. В связи с этим D. Hsieh и J. Wong (1982) даже предлагают использовать показатель интенсивности образования афлатоксикола из афлатоксина B_1 препаратами печени in vitro, а также соотношение количества образующегося афлатоксикола к количеству образующегося афлатоксина Q_1 или водорастворимых метаболитов для оценки чувствительности вида животных к острому и канцерогенному действию афлатоксинов.

Афлатоксин B_2

Метаболизм афлатоксина B_2 изучен значительно меньше, чем метаболизм афлатоксина B_1. При гидроксилировании атома углерода в 4-м положении из афлатоксина B_2 образуется афлатоксин M_2. Это превращение осуществляется в печени при участии тех же ферментных систем, которые катализируют гидроксилирование афлатоксина B_1 до афлатоксина M_1 [Schabort J., Steyn M., 1969; Roebuck B. et al., 1978].

В моче крыс был выявлен афлатоксин B_{2a} в количестве, составляющем 8% введенной дозы афлатоксина B_2. В то же время образование этого метаболита in vitro микросомными ферментами печени было незначительным. В реакции прямого гидроксилирования афлатоксина B_2 в положении С-2 участвует микросомный цитохром P-450 [Dann R. et al., 1972; Roebuck B. et al., 1978]. Обнаружено, что цитоплазматические ферменты печени кроликов и птиц способны восстанавливать карбонильную группу циклопентенона афлатоксина B_2 с образованием 2,3-дигидроафлатоксикола. Полагают, что, по-видимому, эти же ферменты катализируют аналогичные реакции восстановления афлатоксинов B_1, M_1 и Q_1. Возможность превращения афлатоксина B_2 в афлатоксин B_1 показана in vivo у крыс и in vitro в гомогенатах печени утят [Swenson D. et al., 1977; Roebuck B. et al., 1978]. У крыс в печени около 1% введенной дозы афлатоксина B_2 подвергалось метаболическому превращению в афлатоксин B_1, в то время как в

Схема 10.
Пути метаболизма афлатоксина B_2.

печени утят количество образованного афлатоксина B_1 составляло 2—8%. Возможные пути метаболизма афлатоксина B_2 показаны на схеме 10.

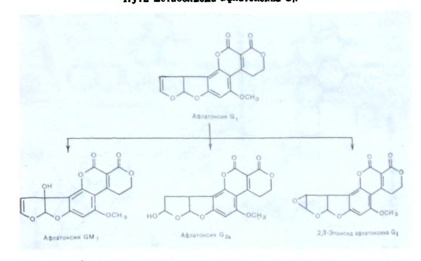
Афлатоксины G_1 и G_2

Гидроксилирование афлатоксина G_1 в положении С-4 с образованием афлатоксина GM_1 происходит также при участии микросомных монооксигеназ, которые катализируют превращение афлатоксинов B_1 в M_1 и B_2 в M_2 [Patterson D., 1973, и др.] (схема 11).

Афлатоксин G_{2a}, полуацеталь афлатоксина G_1, образуется в результате его гидратации, так же как афлатоксин B_{2a} из афлатоксина B_1, однако этот метаболит изучен недостаточно [Patterson D., Roberts B., 1970]. Афлатоксины GM_1 и G_{2a} малотоксичны и, вероятно, не играют сколько-нибудь существенной роли в проявлении канцерогенного действия афлатоксина G_1. Однако предполагают, что афлатоксин G_{2a} аналогично афлатоксину B_{2a} может связываться с белками с образованием шиффова основания.

Гипотетическая активная форма афлатоксина G_1—2,3-эпоксид афлатоксина G_1 — не была выделена или получена синтетическим путем. Доказательства ее существования, так же как и в случае 2,3-эпоксида афлатоксина B_1, вытекают из структуры аддукта афлатоксина G_1 с ДНК, полученного как в результате метаболической активации афлатоксина G_1 микросомами печени, так и после его эпоксидирования с помощью m-хлорнадбензойной кислоты [Garner R. et al., 1972]. Возможно, что 2,3-эпоксид афлатоксина G_1 может спонтанно превращаться в дигидродиол афла-

Схема 11.
Пути метаболизма афлатоксина G_1.



токсина G_1, но такой метаболит пока не выделен. Допускают, что в некоторых случаях дигидродиол афлатоксина G_1 принимают за полуацеталь афлатоксина G_1 — афлатоксин G_{2a}, так как они весьма близки по своим физико-химическим свойствам и активности [Swenson D., 1981]. Из возможных аддуктов 2,3-эпоксида афлатоксина G_1 с нуклеиновыми кислотами пока идентифицирован лишь один — 2,3-дигидро-2-(гуан-7-ил)-3-гидрокси-афлатоксин G_1 [Garner R. et al., 1979] (схема 12).

Метаболизм афлатоксина G_2 практически не изучен. Существуют экспериментальные доказательства метаболического превращения афлатоксина G_2 только в афлатоксин GM_2 (схема 13) [Patterson D., 1973].

Стеригматоцистин

Стеригматоцистин, являющийся предшественником афлатоксина B_1 и одним из основных вторичных метаболитов некоторых видов микроскопических грибов и обладающий выраженными мутагенными и канцерогенными свойствами, так же как и афлатоксин B_1 может подвергаться метаболической активации с образованием соответствующего эпоксида. Выделен и идентифицирован основной аддукт стеригматоцистина с ДНК — 1,2-дигидро-1-(гуан-7-ил)-2-гидрокси-стеригматоцистин [Wogan G. et al., 1979; Essigmann J. et al., 1979] (схема 14).

Итак, мы рассмотрели пути метаболизма основных представителей семейства афлатоксинов. Следует подчеркнуть, что при участии микросомных ферментных систем (главным образом печени), а также в отдельных случаях и ферментов цитозоля, аф-

Схема 12.
Взаимодействие активного метаболита афлатоксина G_1 (2,3-эпоксида афлатоксина G_1) с нуклеиновыми кислотами.

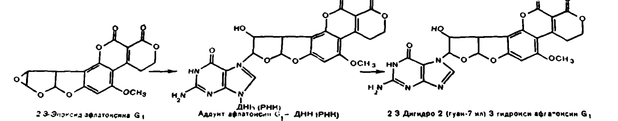


Схема 13.
Метаболизм афлатоксина G_2.

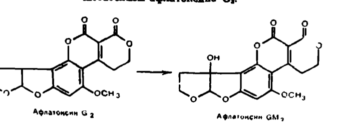


Схема 14.
Взаимодействие стеригматоцистина с нуклеиновыми кислотами.

Стеригматоцистин → 1,2-Эпоксид стеригматоцистина → Аддукт стеригматоцистин — ДНК (РНК) → 1,2-Дигидро-1-(гуан-7-ил)-2-гидрокси-стеригматоцистин

латоксины могут подвергаться гидроксилированию и восстановлению с образованием менее токсичных метаболитов — афлатоксинов M_1, P_1, Q_1, B_{2a}, M_2, G_{2a}, GM_1 и афлатоксикола. Эти же микросомные монооксигеназы могут активировать афлатоксины B_1, G_1 и стеригматоцистин с образованием соответствующих эпоксидов. Несмотря на низкую токсичность афлатоксинов B_{2a}, G_{2a} и дигидродиола афлатоксина B_1, большинство авторов допускают, что эти вещества могут играть важную роль в проявлении острого токсического действия афлатоксинов B_1 и G_1. Афлатоксикол рассматривают как своеобразную резервную форму афлатоксина B_1, интенсивность образования которой может существенно влиять на проявление как острого, так и канцерогенного действия афлатоксина B_1. И, наконец, эпоксиды афлатоксинов B_1, G_1 и стеригматоцистина рассматривают как важнейшие метаболиты афлатоксинов, ответственные за их канцерогенное действие.

Придавая исключительное значение последнему положению, приведем доказательства в пользу существования 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 как единственной канцерогенной формы этого токсина [Swonson D. et al., 1977; Swenson D., 1981]. Во-первых, предполагаемый эпоксид обладает химическими (электрофильность) и биологическими (мутагенность) свойствами, присущими большинству канцерогенов [Miller E., 1978]. Во-вторых, существует прямая корреляция между интенсивностью ковалентного связывания эпоксида с нуклеиновыми кислотами в различных органах животных, которым вводили афлатоксин B_1, и частотой обнаружения опухолей. Например, у крыс афлатоксин B_1 индуцирует развитие главным образом опухолей печени и значительно

реже — почек. Показано, что интенсивность связывания меченого афлатоксина B_1 с ДНК в почках составляет всего 10% связывания токсина с ДНК в печени. Значительно меньшая интенсивность связывания афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами характерна и для животных, резистентных к его канцерогенному действию (хомячки, мыши), по сравнению с таковой у чувствительных видов [Garner R., Wright C., 1975; Wogan G. et al., 1979; Hamigan H., Laishes B., 1984; Lotlikar P. et al., 1984]. Кроме того, скорость образования активных метаболитов афлатоксина B_1 в печени самцов в 2—3 раза выше, чем у самок, которые в 3 раза менее чувствительны к канцерогенному действию афлатоксина B_1 [Gurtoo H., Motycka L., 1976; Gurtoo H. et al., 1976, и др.]. Модифицирующее действие таких алиментарных факторов, как снижение уровня белка и витамина A в рационе, дополнительное введение селена, на канцерогенную активность афлатоксина B_1 также связано с уменьшением концентрации метаболита, ковалентно связывающегося с нуклеиновыми кислотами и белками, т. е. 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 [Hayes J., Campbell T., 1980; Busk L., Ahlborg U., 1980; Prince L., Campbell T., 1982; Chen J. et al., 1982]. Параллелизм между уменьшением связывания афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами в печени и снижением частоты опухолеобразования отмечен и при воздействии других модифицирующих факторов (предварительное введение животным фенобарбитала, гипофизэктомия) [Garner R., 1975; Swenson D. et al., 1977 и др.]. В-третьих, результаты изучения дихлорида афлатоксина B_1 подтверждают гипотезу о существовании 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. Дихлорид по своим химическим и биологическим свойствам аналогичен эпоксиду: он является электрофильным соединением, обладает выраженным мутагенным и канцерогенным действием [Swenson D. et al., 1973]. В-четвертых, идентификация химической структуры аддуктов афлатоксина G_1 и стеригматоцистина с ДНК как эпоксидпроизводных гуанина подтверждает тот факт, что эпоксидирование является общим путем активации близких по структуре канцерогенов. При этом также выявляется четкая корреляция между менее интенсивным образованием аддуктов афлатоксина G_1 с ДНК и менее выраженными канцерогенными свойствами афлатоксина G_1 по сравнению с таковыми афлатоксина B_1 [Garner R. et al., 1979].

Есть все основания полагать, что именно связывание афлатоксина B_1 с нуклеиновыми кислотами, а не с белками, лежит в основе афлатоксинового канцерогенеза. Это подтверждается тем, что афлатоксины B_1 и G_1, резко отличающиеся по интенсивности связывания с ДНК, образуют одинаковое количество аддуктов с белками. Афлатоксин B_2, канцерогенная активность которого составляет лишь 1% активности афлатоксина B_1, связывается с белками так же интенсивно, как и афлатоксин B_1. Афлатоксин B_{2a} и дигидродиол афлатоксина B_1, не обладающие канцерогенными свойствами, активно взаимодействуют с белками и слабо — с нуклеиновыми кислотами. Виды животных, отличающиеся по интен-

сивности связывания афлатоксинов с нуклеиновыми кислотами (крысы и мыши), характеризуются одинаковым уровнем образования аддуктов афлатоксинов с белками.

Факторы, влияющие на метаболизм афлатоксинов

После установления ведущей роли микросомных ферментных систем в метаболизме афлатоксинов предпринимались многочисленные попытки установить зависимость биологической активности афлатоксинов от скорости и путей их метаболических превращений, используя для этих целей различные индукторы и ингибиторы монооксигеназ.

Предварительное введение экспериментальным животным индуктора микросомных оксидаз фенобарбитала приводило к снижению токсического действия афлатоксина B_1, что проявлялось в уменьшении чувствительности к однократному введению токсина в дозе, соответствующей LD_{50}; менее существенным гистопатологическим изменениям печени, ослаблении ингибирующего действия токсина на синтез РНК, уменьшении интенсивности образования связей афлатоксина B_1 с макромолекулами гепатоцитов и, наконец, ослаблении его канцерогенных свойств [Sweason D. et al., 1977; Yoshizawa H. et al., 1981; Homma S. et al., 1983; Mathur M. et al., 1983, и др.]. Близкие результаты были получены и при использовании других индукторов — арохлора 1254, β-нафтофлавона и бутилокситолуола [Bailey G. et al., 1982, 1983; Fukayama M., Hsieh D., 1984]. Содержание радужной форели на рационе, включающем арохлор-1254 в концентрации, достаточной для индукции монооксигеназ в печени, сопровождалось снижением канцерогенной (на 45%) и мутагенной (на 67%) активности афлатоксина B_1 [Shelton D. et al., 1983]. Уменьшение образования опухолей у радужной форели наблюдалось и при включении в рацион β-нафтофлавона как предварительно, так и одновременно с афлатоксином B_1 [Bailey G. et al., 1982, 1983].

В то же время in vitro в ферментных препаратах, выделенных из печени различных животных после введения им фенобарбитала, скорость превращения афлатоксина B_1 в афлатоксины M_1, Q_1 и B_{2a} возрастала, усиливалось образование мутагенных и ДНК-связывающих метаболитов [Neal G., Colley P., 1978; Gurtoo H., Dahms R., 1979; Metcalfe S. et al., 1981; Wong Z. et al., 1981, и др.]. Так, у обезьян in vivo введение фенобарбитала приводило к значительному уменьшению количества афлатоксина M_1 в моче, в то время как in vitro в гомогенатах печени возрастала скорость образования афлатоксина Q_1, афлатоксикола H_1 и водорастворимых конъюгатов афлатоксина B_1, а количество образующихся афлатоксинов M_1 и B_{2a} не изменялось [Wong Z. et al., 1981]. Предварительное введение фенобарбитала коровам приводило к уменьшению на 50% выделяемого с молоком афлатоксина M_1 [McGrew P. et al., 1982]. В надмитохондриальном надосадке, выделенном из печени телят после введения им β-нафтофлавона,

обнаружено значительное усиление гидроксилирования афлатоксина B_1 с образованием афлатоксина M_1, хотя в целом метаболизм афлатоксина B_1 не изменялся [Bodine A. et al., 1982].

Однозначно ответить на вопрос о причинах столь выраженной противоречивости результатов, полученных in vivo (уменьшение токсичности афлатоксинов при предварительной индукции микросомных оксидаз) и in vitro (усиление образования более активных метаболитов, в частности, 2,3-эпоксида афлатоксина B_1), в настоящее время не представляется возможным. Одна из возможных причин может быть связана с изменением кинетических свойств ферментных систем, участвующих как в детоксикации, так и активации афлатоксинов вследствие нарушения их компартментализации в процессе выделения фракции микросом. Следует также иметь в виду, что фенобарбитал наряду с монооксигеназами повышает активность эпоксидгидролазы, глутатион- и UDP-глюкуронозилтрансферазы, увеличивает уровень SH-глутатиона в печени [Кравченко Л. В. и др., 1984; Bock K., 1977; Biesnick E. et al., 1977; Van Cantfort J. et al., 1979]. Активация указанных ферментов может существенно усиливать процессы конъюгации афлатоксина B_1 или его активных метаболитов и тем самым способствовать их ускоренному выведению из организма, что является одной из возможных причин уменьшения токсичности in vivo афлатоксина B_1 при введении фенобарбитала. В пользу этого предположения свидетельствуют данные об усилении образования и экскреции водорастворимых метаболитов афлатоксина B_1 у обезьян, крыс и радужной форели после введения им фенобарбитала, 3-метилхолантрена или β-нафтофлавона [Metcalfe S. et al., 1981; Wong Z. et al., 1981; Loveland P. et al., 1984]. Наконец, некоторые авторы считают, что активация афлатоксина B_1 с образованием 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 in vivo происходит главным образом при участии ядерных мембран и поэтому в условиях индукции микросомного пути окисления афлатоксина B_1 под действием фенобарбитала уменьшается количество токсина, подвергающегося активации ядерными монооксигеназами [Neal G., Godoy H., 1976; Yoshizawa H. et al., 1981].

Введение ингибитора микросомных монооксигеназ препарата SKF-525 A усиливало гепатотоксическое действие афлатоксина B_1, однако биохимические нарушения (например, ингибирование синтеза РНК) были выражены слабее [Scarpelli D., Chiga M., 1972]. Полагают, что и в основе повышения чувствительности животных к токсическому действию афлатоксинов при беременности, дефиците белка и витамина А в рационе лежит выявляемое в этих условиях значительное снижение активности микросомных ферментов [Hayes J., Campbell T., 1980; Mainigi K., 1983]. Одной из причин увеличения канцерогенности афлатоксина B_1 при резком возрастании квоты белка в рационе является, по-видимому, повышение активности монооксигеназной системы и образования афлатоксикола при одновременном снижении активности эпоксидгидролазы и глутатионтрансферазы — ферментов, участвующих в де-

токсикация 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 в клетке [Stott W., Sinhuber R., 1978]. Увеличение доли ненасыщенных жирных кислот в рационе приводило к возрастанию содержания цитохрома P-450 в печени крыс и усилению превращения афлатоксина B_1 в афлатоксины Q_1 и M_1 в микросомах in vitro [Marzuki A., Norred W., 1984].

Важным аспектом изучения путей превращения афлатоксинов является установление возможной корреляции между особенностями их метаболизма у различных видов животных и чувствительностью этих животных к афлатоксинам [Patterson D., 1973; O'Brien K. et al., 1983; Nixon J. et al., 1984]. Многие авторы считают, что высокая чувствительность является следствием более медленного метаболизма и выведения токсинов из организма. Так, показано, что активность микросомных монооксигеназ у мышей выше, чем у крыс, голубей, индюшек и уток. Активность этих ферментов у утят, отличающихся особой чувствительностью к афлатоксинам, в 3—5 раз ниже, чем у высокорезистентных мышей [Thabrew M., Bababunmi E., 1980; Thabrew M., 1982]. В исследованиях, проведенных на клеточных культурах, которые являются более адекватными моделями для изучения метаболизма, чем препараты микросом, выявлено, что гепатоциты мышей в течение 10 ч метаболизируют 90% афлатоксина B_1, в то время как гепатоциты крысы — только 57%. При этом в гепатоцитах крыс 16% токсина было ковалентно связано с макромолекулами клетки (показатель образования активного метаболита), а в гепатоцитах мышей — только 0,41% [Decad C. et al., 1977, 1979]. Близкие результаты были получены и в опытах in vivo: у крыс через 90 мин после введения им ^{14}[C]-афлатоксина B_1 в печени выявлялось 11,1% радиоактивности, а у мышей — всего 0,7%; у мышей количество афлатоксина B_1, связанного с ДНК, РНК и белками, составляло соответственно $^1/_{83}$, $^1/_{25}$ и $^1/_8$ количества, выявляемого у крыс [Ueno I. et al., 1980]. Более эффективная детоксикация афлатоксина B_1 в гепатоцитах мышей определялась и более активным участием в метаболизме афлатоксина B_1 SH-глутатиона и эпоксидгидролазы [O'Brien K. et al., 1983]. При снижении уровня SH-глутатиона в гепатоцитах образование эпоксида афлатоксина B_1 возрастало более чем на 800% у мышей и только на 12% у крыс. Подавление активности эпоксидгидролазы сопровождалось повышением продукции активных метаболитов: у мышей на 61%, а у крыс — на 22%. Эти результаты свидетельствуют о более важной роли процессов конъюгации в детоксикации афлатоксинов у резистентных видов животных (мыши), чем у чувствительных (крысы).

В метаболизме афлатоксинов, кроме микросомных монооксигеназ, могут участвоаать и другие ферменты как в качестве конкурирующих с ними (например, монооксигеназы ядер и митохондрий), так и дополняющих их действие, т. е. катализирующих реакции на последующих стадиях метаболизма (например, конъюгации). Не менее важными, но почти не изученными факторе-

ми, влияющими на метаболизм и тем самым биологическую активность афлатоксинов, являются их способность связываться с белками и другими компонентами крови, скорость их трансмембранного транспорта.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Многочисленными исследованиями как in vivo на различных видах животных, так и in vitro на разных модельных системах, убедительно показано, что в основе молекулярных механизмов действия афлатоксинов лежит их взаимодействие с макромолекулами клетки — нуклеиновыми кислотами и белками [Тутельян В. А., Кравченко Л. В., 1981; Wogan G., 1969, 1973; Chen S. et al., 1972]. Механизм действия афлатоксинов тесно связан с особенностями их метаболизма, в частности, с процессами так называемой активации в клетке. При этом, как уже отмечалось, выделяют два предполагаемых активных метаболита: афлатоксин B_{2a} (или дигидродиол афлатоксина B_1), который интенсивно взаимодействует с белками, и 2,3-эпоксид афлатоксина B_1, ковалентно связывающийся с нуклеиновыми кислотами.

Взаимодействие с белками и нуклеиновыми кислотами

Возможность взаимодействия афлатоксина B_{2a} с аминокислотами предполагает образование его фенолят-иона, альдегидные группы которого вступают во взаимосвязь с аминогруппами аминокислот, пептидов и белков, образуя шиффовы основания (см. схему 8). Многие авторы считают, что образующийся в клетках печени афлатоксин B_{2a} может играть основную роль в проявлении биологической активности афлатоксина B_1 за счет связывания с ферментными белками и подавления активности ключевых ферментов, что приводит к нарушению клеточного метаболизма и некрозу гепатоцитов [Ashoor S., Chu F., 1975; Pattorson D., 1976, 1977]. В опытах in vitro показана способность афлатоксинов B_{2a} и G_{2a} взаимодействовать с панкреатической и кислой ДНКазами из селезенки крупного рогатого скота и подавлять их активность [Schabort J., Pitout M., 1971; Lötter, Schabort J., 1983]. Афлатоксин B_{2a} образует стабильные комплексы с лизоцимом, овальбумином, белками сыворотки крови, микросомными белками и некоторыми аминокислотами [Patterson D., Roberts B., 1970, 1972; Gurtoo H., Campbell T., 1974; Ashoor S., Chu F., 1975]. По мнению D. Patterson (1976, 1977), острый токсический эффект афлатоксина B_1 обусловлен образованием афлатоксина B_{2a}, что подтверждается определенной корреляцией между высокой скоростью образования этого метаболита в печени некоторых видов грызунов и птиц и их чувствительностью к острому отравлению афлатоксинами. Это положение является, однако, гипотетическим и требует дальнейших экспериментальных доказательств.

Возможность связывания афлатоксина B_1 с ДНК в ранних работах показана главным образом на модельных системах in

vitro. Используя метод равновесного диализа и спектрофотометрические данные, M. Sporn и соавт. (1966) показали, что афлатоксин B_1 может образовывать комплекс как с нативной, так и с денатурированной ДНК из вилочковой железы теленка и с нативной ДНК E. coli. Подсчитано, что 600 молей нативной ДНК связывают 1 моль афлатоксина B_1. В аналогичных условиях молярное отношение денатурированной ДНК к афлатоксину B_1 составляло 170 : 1. Близкие результаты были получены и другими авторами при изучении взаимодействия афлатоксинов B_1, G_1 и G_2 с нативной ДНК из вилочковой железы теленка. Характер изменения спектра поглощения всех афлатоксинов был одинаковым, однако выраженность этих изменений коррелировала со степенью подавления афлатоксинами синтеза РНК и белка в срезах печени крыс и их биологической активностью in vivo: афлатоксин B_1 > афлатоксин G_1 > афлатоксин G_2 [Clifford J. et al., 1967].

Позднее W. Lijinsky и соавт. (1970) обнаружили, что при введении ^{14}[C]- и ^{3}[H]-афлатоксинов B_1 и G_1 лабораторным животным максимальное включение метки в нуклеиновые кислоты в различных органах происходит в течение первых 6—18 ч после введения. R. Garner (1975) и R. Garner и соавт. (1975) показали, что через 2 ч после внутрибрюшинного введения ^{14}[C]-афлатоксина B_1 крысам он связывается с нуклеиновыми кислотами преимущественно печени. При этом с ДНК связывается в 10 раз, а с РНК в 20 раз больше токсина, чем с белками. D. Swenson и соавт. (1974) также выявили, что бо́льшая часть введенного крысам ^{3}[H]-афлатоксина B_1 связывается с ДНК и рРНК и только незначительные количества — с фракциями белков. Уже через 2 ч после внутрибрюшинного введения ^{3}[H]-афлатоксина B_1 85—90% обнаруживаемого токсина в ядрах гепатоцитов было связано с хроматином, причем 80% этого количества выявляли в связанной с ДНК форме и лишь 10% было связано с гистонами [Groopman J. et al., 1980].

Многочисленными исследованиями R. Garner, D. Swenson и их сотрудников было показано, что ковалентное связывание афлатоксина B_1 с макромолекулами происходит после его метаболической активации микросомными монооксигеназами, приводящей, как предполагают, к образованию 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. В предыдущем разделе, посвященном метаболизму афлатоксинов, были подробно рассмотрены доказательства в пользу существования ковалентно связанных соединений афлатоксинов B_1, G_1 и стеригматоцистина с нуклеиновыми кислотами и полинуклеотидами (преимущественно поли-Г). Выделены и установлена структура основных аддуктов афлатоксина B_1 с ДНК и афлатоксина G_1 с ДНК (см. схемы 9 и 12).

Выявлена корреляция между чувствительностью различных видов животных к канцерогенному действию афлатоксинов и индексом связывания их с нуклеиновыми кислотами. У мышей, например, малочувствительных к канцерогенному действию афлатоксина B_1, концентрация аддукта афлатоксина B_1 с ДНК в печени

составляла всего 0,1% его концентрации в печени крыс [Essigman J. et al., 1981; Croy R. et al., 1983]. Избирательное поражение печени афлатоксинами также коррелирует с высоким (по сравнению с другими органами) индексом образования ковалентно связанных аддуктов [Swenson D. et al., 1977]. Эти данные позволили предположить, что 2,3-эпоксид афлатоксина B_1, так же как и эпоксиды афлатоксина G_1 и стеригматоцистина, образующие связи с ДНК, являются факторами, которые определяют конформационные и функциональные изменения генетического аппарата клетки, сопровождающие канцерогенез [Wogan G. et al., 1979; Swenson D., 1981]. Мутагенные свойства афлатоксина B_1 также связывают с активностью его 2,3-эпоксида [Stark A. et al., 1979; Stark A., Giroux C., 1983; Nixon J. et al., 1984]. До настоящего времени остается неясной роль аддуктов афлатоксинов с РНК как в проявлении токсических, так и канцерогенных свойств афлатоксинов.

Итак, бесспорно доказан факт взаимодействия афлатоксинов с нуклеиновыми кислотами и белками. Исключительно важным представляется вопрос о влиянии афлатоксинов на метаболизм этих жизненно важных макромолекул.

Влияние на обмен нуклеиновых кислот и белка

Афлатоксины, подобно многим другим гепатотоксинам, значительно подавляют синтез ДНК, РНК и белка. Нарушение синтеза нуклеиновых кислот является наиболее рано выявляемым биохимическим эффектом действия афлатоксинов. Хотя молекулярные механизмы этих нарушений нельзя считать окончательно установленными, тем не менее можно предположить, что подавление синтеза нуклеиновых кислот является следствием взаимодействия афлатоксинов или их метаболитов с молекулой ДНК (или другими компонентами хроматина) и нарушения, тем самым, ее свойств как матрицы. Нельзя полностью исключить и возможность прямого влияния афлатоксинов на ферменты, участвующие в синтезе нуклеиновых кислот.

Введение афлатоксина B_1 в количестве 100 мкг крысам после частичной гепатэктомии приводило к подавлению включения ^{3}]H[-тимидина в ДНК печени через час на 65% и через 12 ч на 95% [De Recondo A. et al., 1966]. При этом активность ферментов, участвующих в синтезе ДНК, определяемая in vitro, полностью сохранялась. Ингибирующее действие афлатоксина B_1 на синтез ДНК в печени интактных крыс при его однократном введении в дозе 5 мг на 1 кг массы тела наблюдалось в течение 50 ч [Rogers A., Newberne P., 1971]. В культуре клеток почки мартышки афлатоксин B_1 в концентрации 0,1 мкг/мл подавлял синтез ДНК на 32% в течение 3 ч, не оказывая при этом влияния на синтез РНК и белка. Показано, что афлатоксин B_1 ингибирует инициацию репликации ДНК [Meneghini R., Schumacher R., 1977]. Афлатоксин B_1 интенсивно подавлял включение

^{3}[H]-тимидина в ДНК и в культурах клеток легкого и печени эмбриона человека [Legator M., 1969; Zuckerman A. et al., 1967].

Уже в самых ранних исследованиях было обнаружено, что введение афлатоксина B_1 лабораторным животным, так же как в инкубация его со срезами печени или культурами клеток, приводит к быстрому и значительному подавлению включения предшественников в РНК и снижению активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Через час после введения афлатоксина B_1 в печени крыс наблюдалась сегрегация ядрышек (разделение фибриллярного и гранулярного компонентов), что характерно для действия ингибиторов ДНК-зависимого синтеза РНК [Pong R., Wogan G., 1970; Kamenova B. et al., 1981]. В исследованиях in vivo афлатоксин B_1 в дозе 0,5—1 мг на 1 кг массы тела подавлял синтез РНК в печени крыс на 50—75% в течение первых 15—30 мин. При этом отмечалось избирательное подавление (на 90%) синтеза ядрышковой РНК. Затем обнаруживались подавление репликации ДНК и последующее угнетение общего процесса транскрипции. Синтез общей ядерной РНК восстанавливался через 24 ч, а ядрышковой РНК и ДНК — через 48 ч [Lafarge C., Frayssinet C., 1970].

Однократное введение афлатоксина B_1 крысам в дозе 5 мг/кг подавляло включение ^{3}[H]-цитидина в ядерную РНК через 70 мин на 92% и оставалось практически на этом же уровне (подавление на 83%) в течение 17 ч. Отношение РНК/ДНК в ядрах снижалось до 78% контрольной величины [Sporn M. et al., 1966]. G. Wogan (1969) в аналогичных условиях эксперимента выявил, что отношение РНК/ДНК в ядрах печени крыс уменьшалось до 80% контроля через 15 мин после введения афлатоксина B_1, достигало минимума (70%) через 30 мин и постепенно нормализовалось к 24-му часу. В более поздние сроки отношение РНК/ДНК уменьшалось в значительно большей степени в цитоплазме [Svoboda D. et al., 1966]. Содержание РНК в гомогенатах печени крыс через 72 ч после введения афлатоксина B_1 в дозе 1 мг/кг уменьшалось почти на 50% [Wogan G., 1969]. G. Wagner и A. Unterreiner (1982) обнаружили подавление синтеза общей РНК в печени через 20 ч после введения афлатоксина B_1 на 91% контрольной величины.

В исследованиях in vitro афлатоксин B_1 в концентрации 0,01—0,1 мМ ингибировал на 50—75% включение оротовой кислоты в РНК срезов печени крыс [Prasanna H. et al., 1975]. Афлатоксин G_1 также подавлял включение ^{14}[C]- и ^{3}[H]-оротовой кислоты в РНК, в то время как афлатоксины B_2 и G_2 не влияли на этот процесс [Mcintosh P. et al., 1976].

Однократное введение афлатоксина B_1 крысам в дозе 1 мг на 1 кг массы тела уже через 5 мин приводило к подавлению активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы, которое через 15 мин достигало 65%. Это выраженное снижение активности ключевого фермента синтеза РНК продолжалось в течение 12 ч после введения токсина. Изменение активности фермента коррелировало с

выраженностью структурных изменений ядрышек [Pong R., Wogan G., 1970; Reynier M. et al., 1975]. Интересно, что активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы в нуклеоплазме ядер, выделенных из печени крыс через 2—9 ч после внутрибрюшинного введения им афлатоксина B_1 была снижена до 40% контрольного уровня [Saunders F. et al., 1972]. В то же время добавление афлатоксина B_1 к ядрам или солюбилизированной РНК-полимеразе не влияло на активность фермента. Близкие результаты получил G. Neal (1972), выявивший резкое (на 60%) снижение активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы при внутрибрюшинном введении крысам афлатоксина B_1 в дозе 7 мг/кг. В дозе даже 60 мг/кг афлатоксин B_1 не оказывал какого-либо влияния на активность этого фермента в печени мышей, не изменялась у них и скорость включения в РНК ^{14}[C]-оротовой кислоты.

Большинство авторов придерживаются гипотезы о том, что ингибирование активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы афлатоксином является следствием его взаимодействия с хроматином, а не прямого воздействия на сам фермент. Некоторые исследователи допускают, что активный метаболит афлатоксина B_1 может оказывать и непосредственное ингибирующее действие на активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы [Moulé Y., 1974; Yu F., 1977, и др.]. F. Yu и соавт. (1982) показали, что афлатоксин B_1 избирательно подавляет активность ядерной РНК-полимеразы только в органе-мишени (печень) и не влияет на ее активность в других органах. При этом степень подавления активности фермента у самцов была больше, чем у самок. У малочувствительных к афлатоксинам мышей не было обнаружено ингибирующего действия токсина на активность фермента. Показано также, что снижение активности РНК-полимеразы под действием афлатоксина B_1 более выражено, чем при действии других афлатоксинов. Степень ингибирования активности фермента коррелировала со степенью токсичности и канцерогенности афлатоксинов: была максимальной у афлатоксина B_1 и в порядке убывания — у афлатоксинов G_1, B_2 и G_2. Обнаружено также, что афлатоксин B_1 ингибирует созревание рибосомной и транспортной РНК [Garvican L., Rees K., 1974; Smith S. et al., 1977; Kamenova B. et al., 1981].

Прямым следствием подавления ДНК-зависимого синтеза РНК является нарушение процессов биосинтеза белка. Доказательством этого служит обнаружение ингибирующего действия афлатоксина B_1 на гормональную индукцию триптофанпирролазы и тирозинаминотрансферазы, а также индукцию бенз(а)пиреном активности бензпиренгидроксилазы, в основе которой лежит усиление синтеза ферментных белков de novo [Pong R., Wogan G., 1970, и др.]. Ингибирующее действие афлатоксина B_1 на биосинтез белка выявлено в опытах как in vitro (на срезах печени крыс, модели изолированной перфузируемой печени крысы, в культурах клеток и бесклеточных систем), так и in vivo на различных видах животных [Sidransky H. et al., 1977; Mohapatra N., Ro-

berts J., 1979; Wagner G., Unterreiner A., 1982, и др.]. Интоксикация афлатоксинами сопровождается снижением содержания общего и микросомного белка в печени крыс и обезьян, а также значительным уменьшением концентрации белка в сыворотке крови различных видов животных [Tung H. et al., 1975; Bandre T. et al., 1982; Ho C., 1982; Smith T., 1982].

Влияние афлатоксина на процессы биосинтеза белка не ограничивается лишь его взаимодействием с ДНК и РНК. В последнее время убедительно показано, что афлатоксины могут блокировать процесс терминации синтеза пептидной цепи. При этом нарушаются движение рибосом вдоль РНК и процесс их освобождения, что сопровождается образованием так называемых спиральных полисом [Sarasin A., Moulé Y., 1975, 1976]. При введении афлатоксина B_1 крысам в дозе 1 мг/кг спиральные полисомы обнаруживали в цитоплазме гепатоцитов уже через 15 мин, и количество их продолжало нарастать, достигая максимума через 4 ч. Образование таких полисом наблюдали в печени и почках крыс и при введении афлатоксина G_1, но не обнаруживали при интоксикации афлатоксинами B_2 и G_2. Существует определенная корреляция между образованием спиральных полисом и подавлением синтеза белка in vivo, не связанного с процессом транскрипции. В частности, формирование таких структур наблюдали в печени крыс и мышей в течение 1-го часа после введения афлатоксина B_1 в дозе соответственно 1 и 60 мг/кг. В этот период синтез РНК в печени крыс был подавлен на 80% и не изменялся в печени мышей. В то же время синтез белка был ингибирован в печени и крыс (на 47%) и мышей (на 27%).

Действие афлатоксинов на синтез нуклеиновых кислот и белка напоминает действие актиномицина D, митомицина C и некоторых других антибиотиков, которые, подобно афлатоксинам, ковалентно связываются с ДНК. Однако существенные различия в конечном биологическом эффекте этих соединений не позволяют объяснить все патологические изменения, наблюдаемые при афлатоксикозе одним только связыванием токсина с ДНК и последующим нарушением синтеза нуклеиновых кислот и белка.

Влияние на другие метаболические процессы

Исследования, посвященные изучению влияния афлатоксинов на липидный обмен, малочисленны, а полученные результаты нередко противоречивы. У крыс при остром и хроническом афлатоксикозе, вызванном афлатоксином B_1, обнаружено снижение скорости включения ^{14}[C]-ацетата в общие липиды печени и жировой ткани [Wei R. et al., 1968]. В то же время T. Shank и G. Wogan (1966) не наблюдали изменений скорости включения меченого ацетата в липиды печени крыс при подостром афлатоксикозе. В опытах in vitro афлатоксин B_1 подавлял включение ^{14}[C]-ацетата в холестерин, фосфолипиды и триглицериды в пре-

паратах печени крыс и клетках кожи человека [Kato R. et al., 1969; Lo W., Black H., 1972]. Добавление токсина в корм цыплят приводило к угнетению скорости синтеза жирных кислот из ^{14}[C]-ацетата в печени, степень которого находилась в прямой зависимости от концентрации токсина в корме. Однако в опытах in vitro не было обнаружено какого-либо влияния афлатоксина на синтез жирных кислот [Donaldson W. et al., 1972].

Однократное воздействие афлатоксином B_1 на беременных крыс приводило к возрастанию скорости включения ацетил-CoA в жирные кислоты и ^{14}[C]-ацетата в общие липиды легочной ткани эмбрионов, в то время как включение метки в фосфолипиды снижалось в 2 раза [Das S. et al., 1978]. У норок, накопление липидов в печени которых является одним из характерных признаков острого афлатоксикоза, однократное введение афлатоксина B_1 приводило к значительному увеличению концентрации ^{14}[C]-липидов (в том числе триглицеридов, свободных жирных кислот, фосфолипидов и холестерина) через 20—40 ч после введения токсина, хотя не было обнаружено изменения скорости включения ^{14}[C]-ацетата в первые 10 ч [Chou C., Marth E., 1975]. В опытах in vitro афлатоксин B_1 вызывал зависимое от дозы подавление включения меченого ацетата в липиды срезов печени норки. Предполагают, что увеличение концентрации липидов в печени может быть следствием снижения скорости их окисления в поврежденных токсином митохондриях или результатом нарушения процессов их транспорта.

Существенное влияние афлатоксины оказывают и на углеводный обмен. Уменьшение количества гликогена в гепатоцитах в первые 2 сут после введения токсина является характерным признаком острого афлатоксикоза. У крыс, получавших афлатоксин B_1 в дозе 0,45 мг на 1 кг массы тела, содержание гликогена в печени через 72 ч составляло всего 15% контрольного уровня [Svoboda D. et al., 1966]. При введении крысам этого токсина в течение 30 дней максимальное снижение концентрации гликогена в печени (до 36% контроля) на 21-й день сопровождалось резким (на 200%) возрастанием уровня глюкозы в плазме крови [Bandre T. et al., 1982]. Такое же угнетение синтеза гликогена в печени и увеличение концентрации глюкозы в плазме крови при подостром афлатоксикозе наблюдали у цыплят [Raj H. et al., 1970; Maurice D. et al., 1983].

Как при остром, так и хроническом афлатоксикозе выраженные изменения были обнаружены в обмене витаминов и минеральных веществ. В печени крыс после введения им афлатоксина B_1 в дозе 4 мг/кг было выявлено угнетение образования витамина A из β-каротина [Chikaraishi S., Suzue R., 1974]. Резкое уменьшение концентрации витамина A в печени и плазме крови при афлатоксикозах обнаружили у телят, свиней и цыплят [Allcroft R., 1969]. В связи с этим уместно привести данные об ингибировании ретинолом мутагенной активности афлатоксина B_1. L. Busk и U. Ahlborg (1980), установившие этот факт, считают,

что он обусловлен либо угнетением образования 2,3-эпоксида афлатоксина B_1 в микросомах, либо усилением процесса его деградации.

У цыплят, получавших корм, загрязненный афлатоксинами, обнаружили снижение концентрации витаминов группы В в плазме крови, желчи и печени и возрастание уровня фолацина в плазме крови [Voigt M. et al., 1980]. У утят при афлатоксикозе также уменьшалось количество рибофлавина в плазме крови и желчи. Близкие результаты были получены в опытах на кроликах: введение афлатоксина B_1 в дозе выше 25 мкг/кг в течение 15 дней приводило к резкому (более чем в 2 раза) снижению концентрации тиамина, пиридоксина и биотина в плазме крови и значительному возрастанию содержания фолацина [Voigt M. et al., 1981].

Однократная инъекция крысам афлатоксина B_1 приводила к увеличению уровня железа, меди и марганца, но не влияла на концентрацию цинка в печени, почках и селезенке [Doyle J. et al., 1977]. У цыплят при введении этого токсина в течение 3 нед выявили зависимое от дозы снижение концентрации цинка в печени [Maurice D. et al., 1983]. Несмотря на установленные изменения в обмене микроэлементов при афлатоксикозе, значение их в механизме токсического действия афлатоксинов не ясно.

Определенный интерес представляют результаты изучения взаимосвязи между гормональными факторами и токсическим действием афлатоксинов. Так, афлатоксин B_1 уже через 2 ч после введения вызывал нарушение способности ядер гепатоцитов крыс связывать глюкокортикоиды [Kensler T. et al., 1976]. Установлена линейная зависимость между ингибирующим действием афлатоксина и его дозой. При дозе афлатоксина B_1, равной 1 мг/кг, его ингибирующее влияние на связывающую способность ядер было максимальным через 6 ч и наблюдалось оно в течение 36 ч. Предполагают, что подавление афлатоксином индуцированного гормонами синтеза ферментов может быть следствием не его действия на ДНК-зависимый синтез РНК, а нарушения взаимодействия гормонов с местами связывания в ядрах.

Геморрагический синдром является одним из важнейших и постоянных признаков острого афлатоксикоза. Нарушение свертываемости крови при афлатоксикозах наблюдали у крупного рогатого скота, свиней, собак, крыс, морских свинок, цыплят и приматов [Doerr J. et al., 1976; Alozie T., Bassir O., 1979; Bassir O., Alozie T., 1979, и др.]. У всех этих видов было установлено уменьшение в плазме крови уровня основного фактора свертывания крови — фактора II (протромбина). У цыплят было снижено также содержание факторов I (фибриногена), V, VII и X. У человекообразных обезьян выявили дефицит факторов II, VII, IX и X. Возможно, что снижение концентрации основных факторов свертывания крови является следствием вызванного афлатоксином нарушения их синтеза в печени. Предполагают также, что афлатоксин B_1 может действовать как антагонист K

и конкурировать с витамином К за места связывания на молекулах ферментов синтеза протромбина и некоторых других факторов свертываемости крови [Bassir O., Alozie T., 1979].

Влияние на структурные и функциональные свойства клеточных органелл

Отравление афлатоксином, как и действие многих других токсических веществ, сопровождается глубокими нарушениями функций отдельных субклеточных мембранных структур и изменением их ферментной активности. Уже на ранних этапах исследования биохимических механизмов действия афлатоксинов была выдвинута гипотеза об определяющем значении нарушения структуры и функций митохондрий в патогенезе афлатоксикоза. Однако результаты последующего изучения были столь неоднозначны ми, что не представлялось возможным сделать окончательные выводы о роли этих органелл в патогенезе афлатоксикоза.

По данным G. Edwards и соавт. (1971), более 30% ^{14}[C]-афлатоксина B_1, определяемого в печени крыс, было связано с фракцией митохондрий. Добавление этого токсина к выделенным митохондриям печени крыс тормозило на 25—44% транспорт электронов. В субмитохондриальных частицах это ингибирование достигло 63%. При этом удалось установить, что угнетение транспорта электронов происходит на участке цепи между цитохромом b и c [Doherty W., Campbell T., 1973]. Афлатоксин B_1 не оказывал существенного влияния на активность маркерного фермента внутренних мембран митохондрий — АТФазы, в то время как афлатоксин M_1 повышал его активность в 3 раза, а афлатоксин G_1 — снижал ее более чем в 2 раза [Pai M. et al., 1975]. По данным D. Desaiah и соавт. (1979), афлатоксины по выраженности их ингибирующего действия на олигомицинчувствительную АТФазу митохондрий печени крыс и мышей in vitro распределяются в следующем порядке: $G_1 > B_1 > G_2 > B_2$.

В условиях in vitro афлатоксины B_1, B_2, M_1 и G_1 повышали активность изоцитрат-, глутамат- и малатдегидрогеназ, локализованных в митохондриальном матриксе, и снижали активность мембрано-связанной β-гидроксибутиратдегидрогеназы. Афлатоксин G_2 подавлял активность всех изученных ферментов в митохондриях печени крыс [Obidoa O. et al., 1980]. В выделенных митохондриях печени цесарки афлатоксин B_1 подавлял активность сукцинат-, малат- и α-кетоглутаратдегидрогеназ, а также цитохром c-редуктазы [Obidoa O., Siddiqui H., 1978; Obidoa O., Obunwo C., 1979].

При острой интоксикации афлатоксинами в печени крыс было обнаружено снижение активности цитохромоксидазы и глутаматдегидрогеназы, но не изоцитрат-, малат- и сукцинатдегидрогеназ [Покровский А. А. и др., 1969; Signh N., Venkitasubramanian T., 1975; Kalengayi M., Desmet V., 1975]. По данным других авторов, при остром афлатоксикозе у крыс, вызванном однократным введе-

нием афлатоксинов B_1 и G_1, через 48 ч в печени и почках снижалась активность сукцинат- и малатдегидрогеназ, цитохромоксидазы, в то время как введение афлатоксина M_1 приводило к активации митохондриальных ферментов этих органов. Афлатоксин B_1 подавлял также активность ферментов цикла мочевины (митохондриальных карбамоилфосфатсинтазы и орнитинтранскарбамилазы) в печени крыс, но не влиял на активность аргиназы, локализованной в цитозоле [Bai N. et al., 1977; Thurlow P. et al., 1980]. Возрастание активности митохондриальных изоцитрат- и глутаматдегидрогеназы в сыворотке крови крыс и надмитохондриальном надосадке при снижении их активности в ткани печени может быть следствием нарушения проницаемости мембран митохондрий, вызванного афлатоксином B_1 или его метаболитами [Emerole G., Bassir O., 1976; Galteau M., 1981]. A. Uwaifo (1984) выявил корреляцию между степенью нарушения функциональной активности митохондрий и чувствительностью различных видов животных к афлатоксину B_1.

Доказано непосредственное действие афлатоксинов на рибосомный аппарат клетки, проявляющееся прежде всего в дезагрегации полисом. Полагают, что афлатоксины связываются со специфическими участками эндоплазматического ретикулума, ответственными за присоединение полисом, вызывая тем самым смещение рибосом и деградацию эндоплазматического ретикулума [Garvican L. et al., 1973; Hayes L. et al., 1975; Thurston J. et al., 1980, и др.]. Например, однократное введение афлатоксина B_1 крысам в дозе 1,5 мг/кг приводило к дезагрегации до 70% полисом в течение первых 18 ч. Как отмечалось выше, ингибирующее влияние афлатоксинов на биосинтез белка может быть связано с его непосредственным действием на полисомы путем взаимодействия с иРНК на полисомах в момент инициации трансляции или в процессе собственно трансляции или путем блокирования терминации трансляции.

Афлатоксины ингибируют процессы гидроксилирования в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов. Считают, что в основе этого лежат подавление активности микросомных оксигеназ и снижение концентрации цитохрома Р-450. Например, однократное введение афлатоксина B_1 самцам крыс приводило к выраженному уменьшению содержания в печени цитохрома Р-450 и активности амидопирин-N-деметилазы и анилингидроксилазы [Kamdem L. et al., 1981]. У самок при однократной инъекции этого токсина падение уровня цитохрома Р-450 и активности монооксигеназ наблюдали только в ранние сроки (48 ч), а через 6—9 мес количество цитохрома Р-450 не отличалось от контроля [Mgbodile M. et al., 1975; Kamdem L. et al., 1983]. Активность UDP-глюкуронозилтрансферазы и эпоксидгидролазы достоверно возрастала в печени крыс как при однократном, так и при повторных введениях афлатоксина B_1. Только при высоких дозах токсина активность UDP-глюкуронозилтрансферазы в печени снижалась [Kamdem L. et al., 1981a, b; 1983].

Активность маркерного фермента микросом — глюкозо-6-фосфатазы — значительно уменьшалась в печени цыплят уже через 3 ч после введения им летальной дозы афлатоксина. При острой интоксикации крыс афлатоксинами в печени также было обнаружено резкое угнетение активности глюкозо-6-фосфатазы, в то время как активность NADH- и NADPH-зависимых цитохром с-редуктаз и неспецифической эстеразы существенно не изменялась [Покровский А. А. и др., 1969; Bai N. et al., 1972, 1973]. В отличие от этого длительное (в течение 60 дней) введение крысам низких доз афлатоксина B_1 (1 и 5 мкг/кг) приводило к возрастанию активности глюкозо-6-фосфатазы [Berlanga de Moraes B. et al., 1976].

Особый интерес представляют данные о влиянии афлатоксинов на структурные и функциональные свойства лизосом. Эти клеточные органеллы, представляющие собой динамическую систему специализированных мембранных образований, которые содержат комплекс гидролитических ферментов, несут большую функциональную нагрузку и обеспечивают защиту клеток от чужеродных веществ и микроорганизмов. Согласно гипотезе некоторых авторов, ферментам лизосом и в первую очередь кислой ДНКазе принадлежит определенная роль в процессе канцерогенеза. Эта гипотеза основана на данных о том, что многие канцерогены, нарушая проницаемость мембран лизосом, способствуют активации и выходу в цитозоль лизосомных ферментов [Покровский А. А., Тутельян В. А., 1976].

Мы изучали in vivo и in vitro влияние афлатоксинов на активность ферментов и свойства мембран лизосом клеток органа-мишени (печени). Исследования действия токсинов проводили параллельно с анализом влияния веществ, значительно подавляющих синтез белка (на том же уровне, что и афлатоксины), но не являющихся канцерогенами, — митомицином С и рубомицином С. Острое отравление афлатоксином B_1 сопровождалось резкой избирательной активацией некоторых лизосомных ферментов (рис. 1). Как видно из рис. 1, уже к 3-му часу после введения токсина активность большинства исследованных ферментов достоверно повышалась. К этому сроку активность кислой ДНКазы достигала 108% контрольного уровня, арилсульфатаз А и В и β-глюкуронидазы — соответственно 141 и 121%. К 12—24-му часу активность ферментов продолжала нарастать, достигая максимума к 48-му часу. Особенно резко повышалась активность кислой ДНКазы (276% контрольного уровня); в 2 раза возрастала активность арилсульфатаз А и В и β-глюкозидазы. Активность β-глюкуронидазы и β галактозидазы повышалась более умеренно (123 и 162%). Начиная с 72-го часа активность ферментов постепенно снижалась. Однако к концу периода наблюдений (96 ч) активность кислой ДНКазы более чем в 2 раза превышала контрольный уровень. Повышенной оставалась и активность β-глюкозидазы (174%) [Покровский А. А. и др., 1971; 1972а, б; 1974]. В то же время при введении митомицина С и рубомицина С ак-

тивность большинства лизосомных ферментов достоверно снижалась [Кравченко Л. В., 1971].

Таким образом, широко распространенное представление о тотальном ингибировании афлатоксинами синтеза любого белка как основе механизма их действия не может быть принято без оговорок. Очевидно, что для более полного объяснения механизма действия афлатоксинов нужны дополнительные данные. Некоторые доказательства, вероятно, следует искать в особенностях нарушения функционирования ферментных систем и клеточных мембранных структур при интоксикации.

При изучении in vitro влияния различных концентраций афлатоксина B_1, митомицина С и рубомицина С на стабильность мембран лизосом печени крыс было обнаружено, что только афлатоксин вызывает выраженную лабилизацию лизосомных мембран и увеличение неседиментируемой активности лизосомных гидролаз (рис. 2) [Кравченко Л. В, 1971, 1980; Покровский А. А. и др, 1972б; Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1972; Тутельян В. А., 1977]. Как видно из рис. 2, 30-минутная инкубация суспензии лизосом с афлатоксином B_1 в конечной концентрации $4 \cdot 10^{-6}$ и $4 \cdot 10^{-5}$ М при 37 °С приводила к 2—3-кратному увеличению неседиментируемой активности некоторых ферментов, в то время как ни митомицин С, ни рубомицин С не влияли на стабильность мембран лизосом. Полученные in vitro данные находятся в определенном соответствии с результатами опытов in vivo, о которых из изученных ингибиторов синтеза белка только афлатоксин B_1 вызывал увеличение неседиментируемой активности лизосомных ферментов печени крыс через 24—48 ч после введения, в то время как указанные антибиотики не влияли на проницаемость мембран лизосом. Иными словами, различия между афлатоксинами и противоопухолевыми антибиотиками (митомицином С и рубомицином С) четко прослеживались на уровне их действия на мембраны лизосом [Безпрозванный Б. К. и др., 1971; Покровский А. А. и др., 1971; Кравченко Л. В., 1971].

Определенные корреляции между выраженностью токсических и гепатоканцерогенных свойств, с одной стороны, и изменением ферментной активности и стабильности мембран лизосом печени, с другой, удалось выявить при сравнительном изучении действия на лизосомы афлатоксина B_1 и стеригматоцистина [Кравченко Л. В., 1979; Морозов И. А., Кравченко Л. В., 1979]. В опытах in vivo стеригматоцистин в дозе 10 мг/кг вызывал у крыс возрастание общей активности кислых ДНКазы и РНКазы, арилсульфатаз А и В, а также β-N-ацетилглюкозаминидазы в печени. Так же как и афлатоксин B_1, стеригматоцистин вызывал достоверное увеличение неседиментируемой активности большинства лизосомных гидролаз в печени. В опытах in vitro с выделенными фракциями лизосом гепатоцитов стеригматоцистин в концентрации $1{,}2 \cdot 10^{-4}$ и $1{,}2 \cdot 10^{-3}$ М повышал неседиментируемую активность лизосомной β-глюкозидазы. Степень выраженности выявленных изменений была меньшей, чем у афлатоксина B_1.

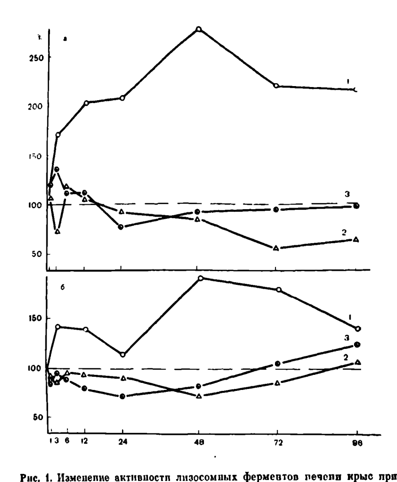
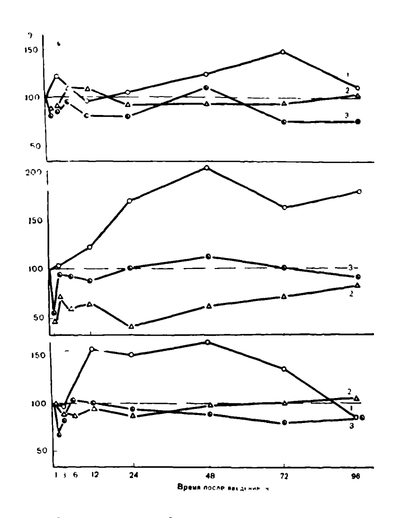


Рис. 1. Изменение активности лизосомных ферментов печени крыс при воздействии афлатоксина (1), митомицина С (2) и рубомицина С (3) [Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1971а, б, 1972а, б].
а — кислая ДНКаза, б — арилсульфатазы А и В;

Итак, нам впервые удалось выявить повреждение мембраны лизосом под действием афлатоксинов. Позднее близкие результаты получили и другие авторы. Активацию лизосомных ферментов печени и нарушение проницаемости мембран лизосом наблюдали при остром афлатоксикозе у цыплят, индюшат, утят и крыс [Tung H. et al., 1970; Adekunle A., Elegbo R., 1974; Pitout M. et al., 1974]. Есть все основания полагать, что в реализации не только токсического, но и канцерогенного действия афлатоксинов определенную роль могут играть лизосомы. Освобождающиеся из поврежденных лизосом гидролазы вызывают нарушение структурных и функциональных свойств других мембранных образований клетки и дезорганизацию метаболических процессов,



в — β-глюкуронидаза; г — β-глюкозидаза; д — β-галактозидаза (средние данные из 8 опытов). По оси ординат — активность в процентах от контроля.

что, возможно, в определенной степени облегчает взаимодействие афлатоксинов с генетическим аппаратом клетки. В свете этих данных особое значение приобретают исследования влияния афлатоксинов на клеточные мембраны, являющиеся, как известно, структурной основой ферментозной мозаики клетки и выполняющие важную роль в организации метаболических процессов.

Имеются сведения о том, что при остром афлатоксикозе изменяются свойства мембран митохондрий и эндоплазматического ретикулума, вследствие чего наблюдается увеличение неседиментируемой активности их маркерных ферментов — глутаматдегидрогеназы и ацетилэстеразы [Покровский А. А. и др., 1973]. Об-

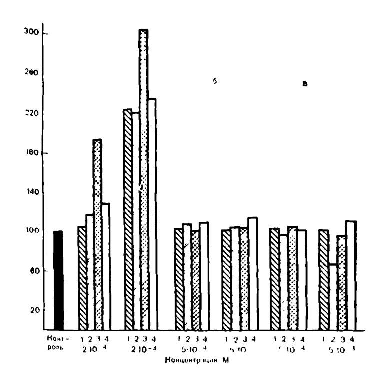


Рис. 2. Влияние in vitro различных концентраций афлатоксина (а), митомицина С (б) и рубомицина С (в) на неседиментируемую активность ферментов выделенных лизосом печени крыс [Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1971б, 1972а, б].

1 — арилсульфатазы А и В, 2 — β-глюкуронидаза, 3 — β-глюкозидаза, 4 — β-галактозидаза (средние данные из 7 опытов). По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля

наруживение при афлатоксикозе у крыс, морских свинок и пони выхода в кровь аминотрансфераз, фруктозобисфосфат-альдолазы и сорбитолдегидрогеназы указывает на повышенную проницаемость плазматических мембран гепатоцитов. Это дает основание предполагать, что повреждение клеточных мембран играет важную роль в развитии патологических изменений при отравлении афлатоксинами [Покровский А. А. и др., 1973; Asquith R. et al., 1980; Thurston J. et al., 1980; Kamdem L. et al., 1981]. Об этом свидетельствуют и приведенные выше данные о значительном подавлении при интоксикации афлатоксинами активности мембрано-связанных ферментов (например, глюкозо-6-фосфатазы и 5′-нуклеотидазы), а также возрастание активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови телят, свиней и крыс при *афлатоксикозе*. Как полагают некоторые авторы, при интоксикации афлатоксинами в первую очередь ингибируется синтез струк-

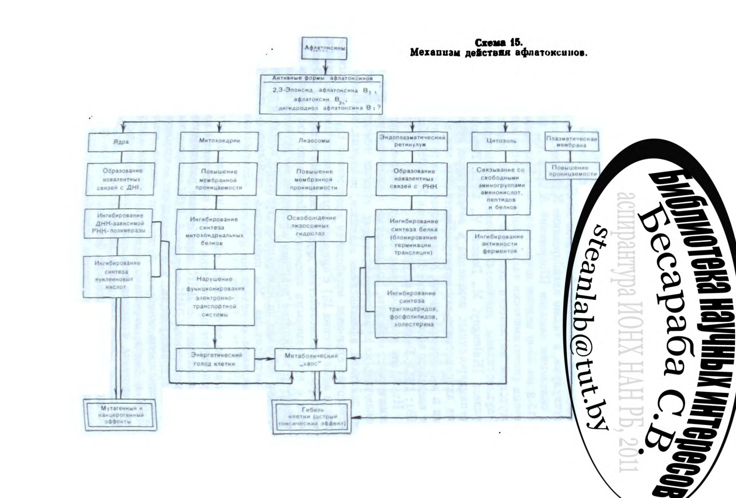
турных белков клеточных мембран, что приводит к нарушению их проницаемости и может играть важную роль в процессе некротизации гепатоцитов.

Определенный интерес представляют данные об изменении активности ферментных систем печени в предканцерогенной стадии. Через 8—12 мес после 30-дневного введения крысам афлатоксина B_1 в печени были обнаружены достоверное снижение активности некоторых ферментов лизосом и эндоплазматического ретикулума, а также ингибирование NADP-зависимого перекисного окисления липидов [Покровский А. А. и др., 1974]. В период с 15-й по 35-ю неделю после введения афлатоксина B_1 у крыс в печени гистохимически также выявили падение или даже полное отсутствие активности щелочной и кислой фосфатаз, АТФазы, 5'-нуклеотидазы, глюкозо-6-фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы и нуклеаз [Kalengayi M., Desmet V., 1975]. Важным показателем преканцерогенных изменений в печени крыс является возрастание активности γ-глутамилтранспептидазы как в ткани печени, так и в сыворотке крови, обнаруживаемое в различные сроки после введения афлатоксина B_1 [Galteau M., 1981; Kamdem L. et al., 1981; 1983; Boyd J. et al., 1982].

Итак, мы подробно рассмотрели наиболее существенные биохимические эффекты, вызываемые афлатоксинами. Как можно заключить из приведенных данных, важным моментом в механизме действия афлатоксинов являются, во-первых, взаимодействие одного из активных метаболитов афлатоксина B_{2a} (или дигидродиола афлатоксина B_1) с аминокислотами, пептидами и белками и, во-вторых, взаимодействие другого активного метаболита 2,3-эпоксида с нуклеиновыми кислотами. Несомненно, что важным компонентом механизма действия афлатоксинов является их повреждающее действие на мембранные структуры клетки и другие процессы метаболизма. Мы попытались суммировать современные представления о механизме действия афлатоксинов в виде схемы 15.

Как видно из схемы 15, афлатоксины или их активные метаболиты действуют практически на все компоненты клетки. В ядрах они связываются с ДНК, ингибируют репликацию ДНК, подавляют активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы и собственно процесс транскрипции, в митохондриях — вызывают повышение проницаемости мембран, блокируют синтез митохондриальных ДНК и белка, нарушают функционирование электронтранспортной системы, вызывая тем самым энергетический голод клетки. Патологические изменения наблюдаются в эндоплазматическом ретикулуме: ингибирование белкового синтеза путем взаимодействия с РНК и блокирования терминации трансляции, нарушение синтеза и регуляции синтеза триглицеридов, фосфолипидов и холестерина. В цитозоле афлатоксины интенсивно взаимодействуют с растворимыми белками и ингибируют активность ферментов. Афлатоксины оказывают прямое действие на лизосомы, что приводит к повреждению их мембран и освобождению активных гид-

Схема 15.
Механизм действия афлатоксинов.



ролаз. Афлатоксины нарушают проницаемость и плазматических мембран. Все перечисленные нарушения приводят к так называемому метаболическому хаосу и гибели клетки.

АФЛАТОКСИНЫ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Обнаружение у афлатоксинов сильнейших гепатотоксических и гепатоканцерогенных свойств, относительно высокая частота и уровень загрязнения ими пищевых продуктов, широкая распространенность в природных условиях продуцентов афлатоксинов позволяют отнести эти микотоксины к биологическим загрязнителям окружающей среды, потенциально опасным для человека.

Клинические наблюдения. Острые афлатоксикозы у людей наблюдаются редко; они связаны с поступлением с пищей исключительно больших количеств афлатоксинов. Все описанные в литературе случаи отравления имели место в странах, отличающихся высоким уровнем загрязнения пищевых продуктов афлатоксинами (табл. 11). Например, в Сенегале причиной заболевания у

Таблица 11. Заболевания печени у людей, связанные с употреблением пищи, загрязненной афлатоксинами [по данным WHO, 1982; Ngindu A., 1982]

Страна	Число случаев заболевания	Возрастная группа	Загрязненный пищевой продукт	Концентрация афлатоксинов, мг/кг	Клинический симптом
Сенегал	2	4—6 лет	Мука арахисовая	0,5—1	Гепатит, в одном случае фиброз печени
Китай	26	Все возрасты	Рис	0,2	Острый гепатит, в 3 случаях (дети) летальный исход
Уганда	1	15 лет	Маниока	1,7	Острый гепатит с летальным исходом
Индия	20	$1^1/_2$—5 лет	Мука арахисовая	0,3	Гепатомегалия, недостаточность печени, развитие цирроза печени; в 3 случаях летальный исход
	Более 400	Взрослые	Кукуруза	0,25—15,6	Острый гепатит, летальный исход более чем в 25% случаев
Кения	20	—	То же	12	Острый гепатит, в 12 случаях летальный исход

детей явилась мука из арахиса, содержащая афлатоксины в концентрации 1 мг/кг. В Индии дети в возрасте $1^1/_2$—5 лет получали в процессе лечения от квашиоркора арахисовую муку, содержащую афлатоксин B_1 в количестве 0,3 мг/кг. Средняя суточная доза токсина составляла при этом 1,1 мкг/кг. В одном из описанных случаев в печени 15-летнего мальчика, погибшего от острого гепатита, были выявлены изменения, характерные для афлаток-

сикоза: диффузный центрилобулярный некроз, умеренная жировая дегенерация гепатоцитов, фиброз синусоидов. Как выяснилось, причиной заболевания была маниока, загрязненная афлатоксином B_1 в концентрации 1,7 мг/кг.

Убедительным примером связи афлатоксинов с острым гепатитом у людей явилась вспышка токсического гепатита в северо-западных районах Индии в 1974 г. Заболевание наблюдалось в течение 2 мес в более чем 150 деревнях двух соседних штатов, и вспышка его была связана с употреблением в пищу недоброкачественной (с видимыми признаками порчи) кукурузы местного производства. При этом смертность среди заболевших была очень высокой. По данным K. Krishnamachari и соавт. (1975), в двух округах из 403 заболевших погибли 113 человек. В исследованиях B. Tandon и соавт. (1977) показано, что в одном из штатов число заболевших составило 994 человека, а количество смертных случаев — 97. Анализ историй болезни 200 госпитализированных больных показал, что заболевание характеризовалось подострым началом с лихорадкой и последующим быстрым развитием желтухи (98% случаев) и асцита (74% случаев). У больных обнаруживали гепатоспленомегалию. В сыворотке крови возрастал уровень непрямого билирубина и активность щелочной фосфатазы. На срезах печени, полученных при биопсии или аутопсии, выявлялась характерная пролиферация эпителия желчных протоков. Смертность среди заболевших составила 10%. Аналогичная картина патоморфологических изменений печени наблюдалась у собак, получавших корм в домах заболевших людей. Анализ пищевых продуктов показал, что причиной заболевания являлась кукуруза, образцы которой в 100% случаев были поражены Aspergillus flavus и Aspergillus parasiticus и содержали афлатоксин B_1 в концентрации до 15,6 мг/кг. При таком уровне загрязнения суточное поступление афлатоксина с пищей составляло 2—6 мг на человека, что соответствует дозе до 120 мкг на 1 кг массы тела в день. Следует отметить, что в образцах кукурузы, отобранных в этих же районах в 1975 г., только в 36% случаев выявлялось заражение A. flavus, и содержание афлатоксина B_1 не превышало 0,1 мг/кг. Важно, что в этот период не было зарегистрировано случаев заболевания. В обеих цитированных работах отмечено, что среди мужчин заболевание встречалось в 2 раза чаще, чем среди женщин.

Описан случай вспышки острого гепатита в 1981 г. в Кении [Ngindu A., 1982]. Из 20 заболевших 12 человек погибли. В печени умерших был обнаружен афлатоксин B_1 в концентрации 89 мкг/кг. В двух семьях, в которых было зарегистрировано 8 случаев заболевания с летальным исходом, в образцах используемой для приготовления пищи кукурузы обнаружили афлатоксин B_1 в концентрации 12 мг/кг.

До настоящего времени дискутируется вопрос о возможной связи синдрома Рейе с загрязнением пищи афлатоксинами. Этот синдром характеризуется развитием энцефалопатии и жировой

дегенерации внутренних органов [Reye R. et al., 1963]. Хотя его этиологию нельзя считать окончательно установленной, многие авторы полагают, что за его развитие ответствен ряд факторов и в первую очередь вирусная инфекция и ксенобиотики. Рассмотрим факты, свидетельствующие в пользу гипотезы о роли афлатоксинов в этиологии синдрома Рейе.

В Таиланде при аутопсии у 23 детей, умерших от заболевания, основными проявлениями которого были энцефалопатия и жировая дегенерация внутренних органов, значительные количества афлатоксина B_1 (до 93 мкг/кг) были обнаружены в ткани печени, содержимом желудка и кишечника (до 127 мкг/кг) и желчи. Следы афлатоксина выявили и в других тканях (мозге, почках), а также в моче [Shank R. et al., 1971]. Авторы подчеркивают, что заболевание характеризовалось быстрым развитием клинических симптомов (рвота, судороги, коматозное состояние), приведших к гибели 80% заболевших, и не отличалось от синдрома Рейе.

I. Dvořačkova и соавт. (1977) представили результаты клинических наблюдений 27 детей в возрасте от 3 дней до 8 лет, погибших от синдрома Рейе. Заболевание характеризовалось острым началом и развитием комы в течение 1—10 дней. В некоторых случаях преобладали симптомы поражения ЦНС и заболевание длилось 2—3 мес. В подострых случаях в печени наблюдали перипортальный фиброз и пролиферацию желчных протоков; при длительности заболевания до 4 мес развивались признаки цирроза печени. Во всех случаях в печени был обнаружен афлатоксин B_1 в концентрации 20—2760 мкг/кг; в 3 случаях выявили и афлатоксин M_1 в концентрации 0,8—20 мкг/кг. В печени 25 детей, погибших от других заболеваний, афлатоксинов не было. При анализе пищевых продуктов в 5 образцах порошкового молока был обнаружен афлатоксин B_1 в количестве 320—5400 мкг/кг. Авторы отмечают, что наряду с попаданием афлатоксина B_1 в организм детей алиментарным путем имели место и случаи трансплацентарной интоксикации (заболевание новорожденных с летальным исходом на 3-й день жизни).

В 1979 г. N. Ryan и соавт. опубликовали результаты наблюдения за 8 детьми с синдромом Рейе, диагноз которого подтвердился при аутопсии. В 6 случаях концентрация афлатоксина B_1 в печени составляла 2,23—17,33 мкг на 1 кг ткани. У 2 детей в острый период заболевания афлатоксин выявили и в крови в концентрации соответственно 11,93 и 31,3 нг/мл. Имеются и другие сообщения о случаях выявления афлатоксина B_1 в сыворотке крови больных с синдромом Рейе [Hayes A., 1978].

Более тщательно проведенные анализы с использованием высокочувствительных методов (жидкостная хроматография высокого разрешения, радиоиммунохимический и иммуноферментный методы) не позволили установить достоверных различий в частоте и содержании афлатоксинов в сыворотке крови и моче между группой детей с синдромом Рейе и членов их семей и группой

здоровых детей того же возраста и лиц с другими заболеваниями [Nelson D. et al., 1980].

Недавно в литературе появились еще два сообщения об обнаружении афлатоксинов в печени детей с синдромом Рейе. В частности, описан случай гибели девочки в возрасте 4 мес через 1- дней после внутрижелудочного введения ей с лечебными целями масла мелии. Клиническая картина заболевания и данные аутопсии во многом напоминали таковые при синдроме Рейе, а в масле были обнаружены афлатоксины B_1 и G_1 в концентрации 25—1000 мкг/кг [Sinnian D. et al., 1982]. C. Stora и соавт. (1983) сообщили о 5 случаях синдрома Рейе у детей в возрасте 3—22 мес с развитием коматозного состояния и гибели в течение 2—5 дней. Содержание афлатоксина B_1 в печени (аутопсийный материал) варьировало от 120 до 810 мкг/кг.

Таким образом, на основании имеющихся данных можно заключить, что афлатоксины играют определенную роль в развитии синдрома Рейе по крайней мере в тех регионах, где их содержание в пищевых продуктах достаточно велико. В то же время нельзя исключить, что накопление афлатоксинов в печени больных является результатом нарушения метаболизма этих токсинов и процесса их экскреции из организма вследствие патологических изменений печени, вызванных другими агентами.

Заслуживает внимания гипотеза о том, что более вероятной причиной квашиоркора у человека является не нарушение характера питания (белковая и калорийная недостаточность), а интоксикация афлатоксинами [Long D., 1982].

Квашиоркор впервые был описан в тропической зоне Африки в 30-е годы [Williams C., 1933] и в последующие годы этот синдром наблюдали исключительно в странах с тропическим и субтропическим климатом [Hendrickse R. et al., 1982, 1983]. Этиология и патогенез этого заболевания до настоящего времени полностью не изучен. Некоторые авторы подчеркивают наличие общих признаков у лабораторных животных с афлатоксикозом и больных квашиоркором: гипоальбуминемия, жировая дистрофия печени, подавление иммунореактивности организма. Интересно, что географическая зона распространения квашиоркора и пик заболеваемости в дождливые сезоны года совпадают с зонами и сезонами года, в которые отмечаются высокие частота и уровень загрязнения пищевых продуктов афлатоксинами [Waldman E., 1973; Long D., 1982].

По предварительным результатам начатых в Судане исследований, афлатоксины содержались в сыворотке крови 15,9% обследованных здоровых детей, 19,3% с маразмом, 22% с маразматическим квашиоркором и 36,4% с квашиоркором. При этом с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в крови больных детей были идентифицированы афлатоксины B_1, B_2, G_1, M_1, M_2, а у больных квашиоркором — и афлатоксикол. Концентрация отдельных афлатоксинов была максимальной в крови детей с квашиоркором, а минимальной — у здоровых лиц. Во всех

группах больных частота обнаружения афлатоксинов в сыворотке крови оказалась выше у мальчиков, чем у девочек. Афлатоксин B_1 был найден во всех образцах аутопсийного материала печени детей с квашиоркором (в концентрации 1320—8350 нг/кг) и не обнаружен в печени детей, погибших от маразма. При анализе пищевых продуктов из местных магазинов выявили чрезвычайно высокий уровень загрязнения афлатоксинами арахиса (до 59,66 мг/кг афлатоксина B_1), арахисового масла (26 мг/кг афлатоксина B_1, 84,5 мг/кг афлатоксина G_1) и гороха (0,9 мг/кг афлатоксина B_1). На основании полученных данных можно предположить, что развитию квашиоркора у детей предшествовало поступление с пищей значительных количеств афлатоксинов. Альтернативным может быть предположение о нарушении при квашиоркоре процессов метаболизма, транспорта и экскреции афлатоксинов в организме [Hendrickse R. et al., 1982, 1983].

В литературе имеются отдельные сообщения об обнаружении афлатоксинов у людей с некоторыми новообразованиями. Афлатоксин B_1 в концентрации 520 нг на 1 г сырой ткани был выявлен в биопсийном материале печени у больного раком прямой кишки и печени [Phillips D. et al., 1976]. В сыворотке крови молодой женщины с первичным раком печени (диагноз установлен при биопсии и впоследствии подтвержден на аутопсии) обнаружили афлатоксин B_1 в концентрации 3,39 нг/мл, а также поверхностный антиген вируса гепатита В. На данных анамнеза стало известно о ежедневном употреблении арахисового масла и кукурузной муки, возможно загрязненных афлатоксинами [Wray B., Hayes A., 1980]. G. Onyemelukwe и соавт. (1982) также сообщили об обнаружении в сыворотке крови 3 из 20 больных первичным раком печени афлатоксина B_1 в концентрации, превышающей 0,15 мкг/мл, причем у 35% больных выявлялся и поверхностный антиген вируса гепатита В. Интересный случай описан I. Dvořačkova и соавт. (1981). Афлатоксин B_1 нашли в опухолевой ткани легкого 2 больных с легочной формой микоза, вызванного A. flavus. Авторы предполагают, что афлатоксины, продуцируемые A. flavus, могут играть определенную роль в генезе опухолей, развивающихся при легочных микозах.

Исследования, проведенные у больных циррозом печени, проживающих в районах Ирана, где это заболевание считается частым, в 6 из 26 случаев выявили афлатоксин M_1 в моче. Афлатоксин не был обнаружен ни в одном случае при анализе мочи больных с другими диагнозами. Больные поступали в клинику из деревень, где определялись очень высокие концентрации афлатоксина M_1 в молоке [Maleki M. et al., 1976].

Эпидемиологические исследования. Одним из важных доказательств реальной опасности афлатоксинов для здоровья человека является установление корреляций между частотой и уровнем загрязнения пищевых продуктов афлатоксинами и частотой первичного рака печени среди населения. Первичный рак печени встречается очень редко (максимум до 4% общего числа злока-

чественных опухолей) в странах Европы, Северной Америки и Австралии, но его частота *резко возрастает* (до 25—50%) в некоторых странах Юго-Восточной Азии и Африки. В странах Европы и Северной Америки первичный рак печени встречается преимущественно у мужчин в возрасте старше 60 лет, в то время как среди населения стран Африки — у молодых мужчин. Так, в Мозамбике частота первичного рака печени у мужчин в возрасте 25—35 лет в 500 раз превышает частоту этого заболевания у мужчин той же возрастной группы в США и в 15 раз выше заболеваемости мужчин в Йоханнесбурге, расположенном всего в 300 милях от Мозамбика [Wogan G., 1968]. Наибольшая частота первичного рака печени (по некоторым данным до 68—70% общего числа злокачественных опухолей) зарегистрирована у мужчин банту в Мозамбике. G. Wogan (1968) подчеркивает, что основными эпидемиологическими характеристиками первичного рака печени среди населения стран Африки являются, во-первых, преимущественное поражение мужчин; во-вторых, один тип опухоли — гепатоцеллюлярная карцинома; в-третьих, обнаружение в большинстве случаев (60—90%) одновременно с первичным раком цирроза печени.

Эпидемиологические исследования, проведенные в некоторых странах Африки и Юго-Восточной Азии, позволили выявить определенную корреляцию между частотой первичного рака печени и содержанием афлатоксинов в пище различных групп населения. M. Alpert и соавт. (1971) обратили внимание, что в Уганде заболевание отличается особо быстрым течением и встречается особенно часто главным образом среди слоев населения с недостаточным питанием. При этом была выявлена зависимость между частотой гепатом и степенью загрязнения пищевых продуктов афлатоксинами (табл. 12).

Таблица 12. Загрязнение пищевых продуктов афлатоксинами и частота гепатом в некоторых племенах Уганды

Племя	Частота обнаружения афлатоксинов в пищевых продуктах, %	Частота гепатом, число случаев на 100 000 населения в год
Карамойонг	44	15
Баганда	20	2
Западный Нил	23	2,7
Ахоли	15	2,7
Сога	10	2,4
Наколе	11	1,4

Исследования, проведенные группой ученых из Массачусетского технологического института (США) в Таиланде [Shank R. et al., 1972], а также результаты аналогичных наблюдений в Кении, Свазиленде и Мозамбике [Peers F., Linsell C., 1973, 1977;

Van Rensburg S. et al., 1974] позволили выявить четкую зависимость заболеваемости первичным раком печени в этих районах от содержания афлатоксинов в готовой к употреблению пище (табл. 13).

Таблица 13. **Связь между уровнем поступления афлатоксинов с пищей и частотой первичного рака печени в некоторых странах Азии и Африки [по данным Linsell A., 1982]**

Страна	Район	Расчетное количество потребленного с пищей афлатоксина взрослым населением, нг/кг массы тела/день	Частота первичного рака печени	
			число зарегистрированных случаев	заболеваемость на 100000 населения в год
Кения	Горный район	3,5	4	1,2
Таиланд	Сонгкхла	5	2	2
Свазиленд	Высокий вельд	5,1	11	2,2
Кения	Возвышенность	5,9	33	2,5
Свазиленд	Средний вельд	8,9	29	3,8
Кения	Низменный район	10	49	4
Свазиленд	Лебомбо	15,4	4	4,3
Таиланд	Ратбури	45	6	6
Свазиленд	Низкий вельд	43,1	42	9,2
Мозамбик	Иньямбане	222,1	460	13

По данным F. Peers и C. Linsell (1977), в Кении и Свазиленде зависимость частоты первичного рака печени от уровня поступления афлатоксинов с пищей была более выражена у мужчин, чем у женщин. В Таиланде первичный рак печени у мужчин встречался в 4 раза чаще, чем у женщин [Shank R. et al., 1972].

A. Brudzynski и соавт. (1977) получили аналогичные результаты при проведении исследований в Заире. Анализ заболеваемости в университетской клинической больнице в Киншасе за период с 1966 по 1972 гг. показал, что смертность от заболеваний печени, главным образом рака, достигала 20%, а рак печени составлял 47% всех случаев смерти от злокачественных новообразований. Иногда в моче больных раком печени выявляли афлатоксины. При определении содержания афлатоксинов в образцах арахиса и маниоки, отобранных на центральном рынке Киншасы в 1972—1973 гг., были получены следующие данные: в высоких концентрациях афлатоксин B_1 обнаружили в 61% образцов арахиса среднего качества (12,5—1000 мкг/кг и более), в 10% образцов арахиса высшего качества (250—1000 мкг/кг) и в 33% образцов маниоки. R. Pang и соавт. (1974) выявили афлатоксины в биопсийном материале печени 57,7% больных первичным раком печени (гепатоцеллюлярные гепатомы) в Индонезии. В анамнезе больных отмечалось длительное и почти ежедневное употребление в пищу арахиса. При анализе проб пищевых продуктов были обнаружены афлатоксин B_1 в концентрации 17—1190 мкг/кг и афлатоксин G_1 в концентрации 5—630 мкг/кг.

Представляют интерес наблюдения J. Bulatao-Jayme и соавт. (1982), проведенные на Филиппинах. Сравнение частоты загрязнения афлатоксинами пищи 90 больных первичным раком печени и 90 здоровых людей показало, что суточное потребление афлатоксинов с пищей у больных было в 4,4 раза выше, чем у здоровых лиц. При этом основными источниками афлатоксинов оказались маниока (51,2% общего количества афлатоксинов), кукуруза (20,3%), арахис (6,8%) и сладкий картофель (5,8%). Авторы подчеркивают наличие корреляции между уровнем афлатоксинов в пище и частотой первичного рака печени. Потребление алкоголя значительно увеличивало эту зависимость.

В Нигерии, где относительная частота первичного рака печени среди мужчин составляет 14,4%, афлатоксины были обнаружены в сыворотке крови здоровых сельских жителей, впервые ставших донорами. При этом афлатоксины в крови содержались в следующих концентрациях: B_1 0,025—0,57; B_2 0,01—0,39; G_1 0,024—0,59 и G_2 0,012—0,192 мкг/мл. Поверхностный антиген вируса гепатита B обнаружили только в одном случае. Имеются также сообщения о выявлении афлатоксина B_1 и его метаболитов в моче клинически здоровых людей. Анализ пищевых продуктов показал, что наиболее часто и в наибольшей концентрации афлатоксины содержатся в арахисе, маниоке, просе и кукурузе (1,2—1,7 мг/кг), а в минимальных количествах — в рисе, сое, красном перце (0,04—0,4 мг/кг). Следует отметить, что маниока является одним из основных продуктов ежедневного рациона нигерийского населения — по данным за 1968 г. потребление ее составляло 328 г в день на одного человека. Суточное потребление проса, кукурузы и арахиса составляло соответственно 83,1; 36,2 и 11,5 г в день на человека [Onyemelukwe G., Obgadu G., 1981; Bababunmi E. et al., 1982]. Заслуживают внимания результаты эпидемиологических исследований, проведенных в 13 селениях Южной Индии и выявивших четкую зависимость между частотой обнаружения гепатомегалии у детей в возрасте от 18 мес до 5 лет, частотой заражения риса плесневыми грибами и обнаружения в нем афлатоксинов [Pargia H., 1982].

H. Sun и соавт. (1983) предполагают, что высокая частота рака желудка в некоторых районах Китая может быть связана с загрязнением пищевых продуктов стеригматоцистином.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о наличии положительной корреляции между уровнем ежедневного поступления в организм афлатоксинов и частотой первичного рака печени среди населения определенных регионов. Экспериментальные данные, полученные в опытах на лабораторных животных, доказавшие наличие канцерогенных свойств у афлатоксинов, а также дозозависимого эффекта, могут расцениваться как подтверждение выявленных в эпидемиологических исследованиях корреляций. Можно утверждать, что, во-первых, поступление в организм афлатоксинов значительно повышает риск развития рака печени, во-вторых, этот риск возрастает с увеличением дозы

афлатоксинов и, в-третьих, степень риска может быть снижена путем уменьшения уровня загрязнения афлатоксинами пищевых продуктов.

Следует, однако, отметить, что в приведенных выше работах афлатоксины рассматривались как единственный этиологический фактор первичного рака печени. Несомненно, что в развитии этого заболевания важную этиологическую роль могут играть и другие факторы и кофакторы, такие как недостаточное питание, вирусы, алкоголь, другие природные химические канцерогены (некоторые микотоксины, циказин, сафлор, таннины, пирролизидиновые алкалоиды; в меньшей степени — нитрозамины, полихлорированные углеводороды, некоторые инфекции и даже курение). Одним из важных вопросов, которые возникают при анализе эпидемиологических данных, является отсутствие, как правило, сведений о состоянии фактического питания обследуемых контингентов населения. Учитывая данные экспериментальных исследований об усилении индукции рака печени афлатоксинами при изменении содержания в рационе белка и липотропных веществ, изучение этих взаимоотношений при эпидемпологических обследованиях представляется исключительно важным.

Особенно оживленная дискуссия ведется вокруг взаимоотношений афлатоксинов и вируса гепатита в этиологии первичного рака печени. Доказана строгая и специфическая связь между первичным раком печени и вирусным гепатитом В [Тареев Е. М., 1970; Trichopoulos D. et al., 1982]. По данным Е. М. Тареева (1970), заболеваемость первичным раком печени среди лиц с циррозом печени в 15—20 раз выше, чем среди остального населения. При этом, как считает автор, 75% всех циррозов составляют циррозы, развившиеся в результате перенесенного вирусного гепатита. После открытия австралийского антигена (поверхностный антиген гепатита В) стало возможным проведение широких эпидемиологических исследований зависимости между антигеноносительством и частотой первичного рака печени. Показано, что антиген гепатита В, выявляемый обычно только у 0,1—10% клинически здоровых людей, значительно чаще обнаруживается в сыворотке крови больных первичным раком печени (для некоторых регионов в 12 раз чаще, чем у остального населения) [Goady A., 1975; Lutwick L., 1979]. Отмечается определенный параллелизм в распространении первичного рака печени и «антигенемии» в различных регионах мира [Trichopoulos D. et al., 1982]. Такая же связь отмечается и в отношении частоты обнаружения афлатоксинов в пищевых продуктах [Stoloff L., 1977].

Вирусоносительство и возможность трансплацентарного перехода вируса резко повышают риск развития первичного рака печени у потомства. Ретроспективное обследование матерей больных с первичным раком печени показало, что 71% из них являются носителями антигена гепатита В (в контрольной группе — 14%) [Linsell C., 1981]. По мнению D. Trichopoulos и соавт.

(1982), риск развития первичного рака печени у таких антигеноносителей соизмерим или даже *выше риска возникновения рака* легкого у курильщиков.

Заслуживает внимания предположение о потенцировании канцерогенных эффектов при одновременном воздействии афлатоксинов и вируса гепатита В. Это было продемонстрировано в опытах на мартышках [Lin J. et al., 1974]. В пользу этого предположения свидетельствуют и факты обнаружения в сыворотке крови больных первичным раком печени наряду с афлатоксинами и антигена гепатита В [Wray B., Hayes A., 1980; Onyemelukwe G. et al., 1982].

Возможно, угнетение клеточного иммунитета при хронической интоксикации афлатоксинами является одной из причин высокой частоты антигенемии в указанных выше регионах, вследствие чего увеличивается риск развития первичного рака печени. Предполагают также, что поврежденная афлатоксинами система иммунного контроля теряет способность распознавать очаги малигнизации в печени [Lutwick L., 1979; Trichopoulos D. et al., 1982].

Особо следует остановиться на данных о воздействии афлатоксинов на человека в производственных условиях. При анализе заболеваемости за 11-летний период у 55 рабочих, занятых на переработке арахиса и других масличных (период воздействия 2—3 года), у 7 человек выявили развитие злокачественных опухолей различной локализации, в том числе и первичного рака печени. Концентрация афлатоксинов в воздухе рабочей зоны могла находится в пределах от 0,87 до 72,0 нг/м^3 [Van Nieuwenhuize J. et al., 1973]. Описаны два случая легочного аденоматоза с летальным исходом у людей, перерабатывающих бразильские орехи. В легких были обнаружены изменения, характерные для действия афлатоксина B_1 [Dvořačkova I., 1976]. Имеется сообщение об аденокарциномах толстой кишки у двух научных работников, в течение нескольких лет занимавшихся выделением в очисткой афлатоксинов для исследовательских целей [Deger G., 1976]. Наконец, на основании эпидемиологических исследований смертности рабочих маслопрессового производства, имевших длительный контакт с афлатоксинами, R. Hayes и соавт. (1984) сделали вывод о повышенном риске развития онкологических заболеваний у этой категории рабочих. Итак, мы рассмотрели прямые и косвенные доказательства роли афлатоксинов в развитии патологии человека. Несомненно, есть все основания считать афлатоксины химическими агентами, создающими реальную опасность для здоровья человека и способными оказывать на него острое токсическое действие, а также вызывать отдаленные последствия (например, злокачественные новообразования печени). Дальнейших обоснований требуют предположения о причинной связи между потреблением афлатоксинов с пищей и развитием первичного рака печени у человека, а также роли афлатоксинов в развитии синдрома Рейе и квашиоркора.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ АФЛАТОКСИНАМИ

Как уже отмечалось, продуцентами афлатоксинов являются различные штаммы двух видов аспергилла — Aspergillus flavus и A. parasiticus. Согласно данным, полученным во многих странах, из 1390 изолятов A. flavus продуцентами афлатоксинов являются 803 изолята, т. е. около 60% [Edds G., 1979]. Продуценты афлатоксинов встречаются повсеместно и этим объясняются значительные масштабы загрязнения ими пищевых продуктов и кормов. Частота обнаружения и уровень загрязнения афлатоксинами в значительной степени зависят от географических и сезонных факторов, условий выращивания, уборки и хранения урожая сельскохозяйственной продукции. В тропических и субтропических районах сельскохозяйственные культуры больше подвержены загрязнению афлатоксинами, чем в районах с умеренным климатом. Важно отметить, что продуценты афлатоксинов могут заражать растущие культуры вследствие повреждения растений насекомыми — переносчиками спор A. flavus, и вырабатывать токсины как до сбора урожая (на корню), так и в период сбора урожая и хранения готовой продукции. Загрязнение, например, арахиса происходит главным образом в послеуборочный период, в то время как семена хлопчатника, початка кукурузы, сорго, фисташковые орехи, миндаль и грецкие орехи могут загрязняться до сбора урожая [ВОЗ, 1982; Davis N., Diener U., 1983; Lillehoj E., 1983; McMillian W., 1983; Payne G., 1983].

В природных условиях более часто и в наибольших количествах афлатоксины обнаруживают в арахисе, кукурузе, семенах хлопчатника. Кроме этого, в значительных количествах они могут накапливаться в различных орехах, семенах масличных, пшенице, ячмене, рисе, зернах какао и кофе, в некоторых овощах и фруктах.

Основными производителями арахиса (около 70% мирового производства) являются страны Африки и Азии, для населения которых он представляет собой главный источник пищевого белка и жира. В Индии, на долю которой приходится ⅓ мирового производства арахиса, в разные годы афлатоксины в значительных концентрациях обнаруживали в 10—50% изученных образцов арахиса. Имеются сообщения о высокой частоте загрязнения афлатоксинами арахиса в Таиланде (до 12 300 мкг/кг), на о. Тайване, в Индонезии (в 80% случаев, средний уровень 130 мкг/кг) [Stoloff L., 1977; FAO, 1979; Angsubhakorn S. et al., 1982]. Высока частота и уровень загрязнения афлатоксинами арахиса в странах Африки: в Нигерии (до 1700 мкг/кг), Судане, Сенегале, Мозамбике (средний уровень 1036 мкг/кг), Свазиленде, Тунисе, Египте (до 1000 мкг/кг) [Mirocha C. et al., 1980; ВОЗ, 1982; Emerole G. et al., 1982]. В США частота обнаружения афлатоксинов в арахисе в концентрации выше 25 мкг/кг варьировала в отдельные годы от 0,9 до 6,2% изученных образцов. Афлатоксины в арахисе обнаруживали в Бразилии (в концентрации выше 1000 мкг/кг); в Австралии — в отдельные годы в 50% урожая [Blaney B., 1982;

Fonseca H. et al., 1982]. В странах Европы (Великобритания, Дания, Норвегия, Югославия, Австрия, ГДР, Венгрия) в разные годы от 20 до 100% образцов импортируемого арахиса содержали афлатоксины, причем в некоторых случаях в количестве более 1000 мкг/кг [Jarvis B., 1975; Patterson D., Roberts B., 1980; Jewers K., 1982; Fritz W., Engst R., 1981; Schuh M. et al., 1982; Sutic M. et al., 1982; Horváth E. et al., 1982].

В исследованиях, проведенных в нашей лаборатории [Эллер К. И. и др., 1982, 1984], афлатоксины были выявлены в 7 из 19 образцов импортируемого в СССР арахиса в 1982 г. (максимальный уровень 980 мкг/кг) и в 9 из 65 образцов в 1983 г.

Высокие концентрации афлатоксинов обнаружены и в продуктах переработки арахиса, в частности, в нерафинированном арахисовом масле: в Индии — до 7100, в Малайзии — до 10 000, в Нигерии — до 500 и в Бразилии — до 275 мкг/кг [Nwokolo C., Okonkwo P., 1978; ВОЗ, 1982; Fonseca H. et al., 1982].

Высокий уровень загрязнения арахиса афлатоксинами является одной из основных причин снижения его экспорта странами-производителями (Индия, Гамбия, Нигерия, Сенегал, Судан). Как известно, бóльшая часть (70%) импорта арахиса приходится на страны Европы. Однако в последние годы ряд стран (Нидерланды, Дания, Франция, ФРГ, Италия и др.) значительно сократили ввоз арахиса и продуктов его переработки. Только за 5 лет, с 1976 по 1980 гг., импорт арахисового масла сократился с 2,28 до 1,31 млн. т [Pargia H., 1982]. Эффективность этих мероприятий достаточно высока. Так, в Швеции после запрещения в 1978 г. включения арахиса в состав комбикормов, резко снизились частота и уровень загрязнения концентрированных комбикормов афлатоксинами: если в 1976 г. 73% образцов кормов содержали афлатоксин B_1 в концентрации 47 мкг/кг, то в 1982 г. — только 1,8% образцов в концентрации менее 2 мкг/кг [Rihs T. et al., 1982].

В мировом масштабе кукуруза является одной из основных зерновых культур. По объему производства кукурузы первое место в мире занимают США — более 40%. Проведенные в США систематические исследования (начиная с 1964 г.) выявили афлатоксины в кукурузе в различных концентрациях, чаще в образцах из юго-восточных штатов. Сильная засуха в этом регионе в 1977 г. явилась причиной высокого уровня загрязнения кукурузы афлатоксинами. В целом в 7 юго-восточных штатов США (Алабама, Флорида, Джорджия, Миссисипи, Северная и Южная Каролина, Вирджиния) 56% урожая кукурузы (111,4 млн. бушелей) содержали афлатоксины в концентрации, превышающей установленные в США регламенты (20 мкг/кг). Концентрация афлатоксинов в 26% образцов превышала 100 мкг/кг. В некоторых штатах высокая частота загрязнения кукурузы афлатоксинами установлена была непосредственно в поле (на корню) и в ряде случаев достигала уровня, превышающего 1000 мкг/кг. Это связывают главным образом с засухой и ранними повреждениями

зерна насекомыми-вредителями [Hamilton P., 1979. Zuber M., Lillehoj E., 1979; Llewellyn G., Katzen J., 1981; Gray F. et al., 1982; McMillian W., 1982]. Имеются сообщения о высоком уровне загрязнения афлатоксинами кукурузы в Бразилии (до 2000 мкг/кг) и в Гватемале (до 1650 мкг/кг), в странах Юго-Восточной Азии — в Индии, на Филиппинах (до 1330 мкг/кг в 94% изученных образцов). В Таиланде в 1967—1969 гг. 35% образцов кукурузы содержали афлатоксин B_1 (максимальный уровень 3730 мкг/кг); в 1973—1977 гг. — 50% образцов (максимальный уровень 1000 мкг/кг); в 1976—1980 гг. 64% образцов кукурузы, предназначенной на экспорт, содержали афлатоксины, в том числе 27% на уровне 1000 мкг/кг и 4% — 10 000 мкг/кг [FAO, 1979, De Campos M. et al., 1980, Fonseca H. et al., 1982; Angsubhakorn S. et al., 1982]. Афлатоксины в кукурузе обнаружены в Кении, Мозамбике, Уганде, Свазиленде, Гане, Нигерии и др. В Египте концентрация афлатоксинов в белой кукурузе достигала 16 883 мкг/кг, а в желтой — 1689 мкг/кг [Qutet S. et al., 1983]. Имеются отдельные сообщения о выявлении афлатоксинов в кукурузе и в Европейских странах — Франции (до 187 мкг/кг), Югославии (до 50 мкг/кг) [FAO, 1979]. В СССР в 3,2% изученных образцов кукурузы урожая 1980—1981 гг. были обнаружены афлатоксины в концентрации, превышающей 5 мкг/кг [Эллер К. И. и др., 1982]. Афлатоксин B_1 в концентрации от 0,5 до 600 мкг/кг выявили в 3,5% образцов кукурузы урожая 1979—1981 гг. в Грузинской ССР [Двали Г. Н., 1983а, б]. В Казахстане при исследовании 65 образцов кукурузы урожая 1980 г. афлатоксин B_1 был обнаружен в 46% случаев, причем наблюдалась четкая зависимость загрязнения кукурузы от условий ее хранения [Кулманов М. Е., 1982].

В других зерновых культурах афлатоксины обнаруживаются редко и в сравнительно низких концентрациях. В пшенице афлатоксины выявляли в США (в концентрации до 8 мкг/кг), в некоторых странах Центральной Америки (до 10 мкг/кг), Пакистане (5—240 мкг/кг), Египте (до 1489 мкг/кг), в некоторых странах Европы (5—48 мкг/кг) [ВОЗ, 1982; Qutet S. et al., 1983; Hagler W. et al., 1984]. При анализе пшеницы и других злаков в СССР в одном из 169 изученных образцов урожая 1972 г. выявили афлатоксин B_1 в концентрации 100 мкг/кг и в 24 из 138 образцов урожая 1973 г. в концентрации 20—444 мкг/кг [Львова Л. С. и др., 1976]. Даже в южных районах СССР загрязнение зерновых культур встречается редко и его уровень незначительный. В Казахской ССР из 100 образцов пшеницы урожая 1975—1976 гг. афлатоксин B_1 был обнаружен только в 5 и в количестве всего 5—10 мкг/кг [Бухарбаева А. С., Ников П. С., 1977]. М. Е. Кулманов (1982) обнаружил афлатоксин B_1 на том же уровне в 2 из 37 образцов пшеницы урожая 1980 г., а Т. Н. Уркумбаева (1983) — в 3 из 39 образцов урожая 1980—1981 гг. (средний уровень 6,3 мкг/кг). При анализе 584 образцов пшеницы урожая 1980—1981 гг. афлатоксин B_1 в количестве 10—20 мкг/кг обнаружили только в 5 образцах [Шарманов Т. Ш.

и др., 1984]. В другой южной республике (Грузия) из 210 образцов пшеницы урожая 1979—1982 гг. афлатоксин B_1 был выявлен только в 2 образцах в количестве до 13 мкг/кг [Двали Г. Н., 1983а].

Рис представляет собой ценную пищевую культуру, причем в некоторых странах Азии он является основным источником белка и его потребление на человека в среднем достигает 170—440 г в день До 90% выращиваемого в мире риса приходится на страны, расположенные в так называемой муссонной зоне Азии. В природных условиях рис относительно редко подвергается загрязнению афлатоксинами. Так, только в менее чем 2% изученных образцов риса, отобранных из торговой сети различных стран Африки, на Филиппинах и Таиланде, были обнаружены афлатоксины. Максимальный уровень загрязнения риса афлатоксинами в естественных условиях составляет 600 мкг/кг [ВОЗ, 1982; Labouche C., 1976; FAO, 1979; Qutet S. et al., 1983]. Сорго широко используется в качестве пищевого продукта в Индии и некоторых странах Центральной Америки и Африки. Афлатоксины в сорго обнаружены в Индии, США (до 50 мкг/кг), Гватемале, Уганде, Нигерии (100% изученных образцов содержали афлатоксин B_1 в концентрации 30—211 мкг/кг) и Австралии (до 8000 мкг/кг) [ВОЗ, 1982; Labouche C., 1976; De Campos M. et al., 1980; Ciaih N., Ogbadu G., 1980].

Данные о загрязнении афлатоксинами других зерновых культур малочисленны. Они обнаружены в ячмене, просе, овсе в количестве до 40 мкг/кг [Кулманов М. Е., 1982; Эллер К. И. и др., 1982; Двали Г. Н., 1983а, б; Уркумбаева Т. Н., 1983; Stoloff L, 1977]. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о незначительном загрязнении афлатоксинами большинства зерновых культур.

Семена некоторых масличных культур (хлопчатника, подсолнечника, сои) являются хорошим субстратом для роста и размножения продуцентов афлатоксинов. Особо следует отметить высокий уровень загрязнения афлатоксинами семян хлопчатника. Заражение их A. flavus происходит на корню до уборки урожая, причем значительно чаще в условиях ирригации. В семенах хлопчатника афлатоксины неоднократно обнаруживали в США, в странах Центральной Америки, Индии, Иране, во многих европейских странах (Греции, ФРГ, Дании, Швеции). Например в США, при анализе урожая 1964—1967 гг. афлатоксин B_1 выявили в 6,5%—8,8% из 3000 образцов семян хлопчатника и в 12,7—21,5% образцов из 3000 проб муки из этих семян. Отдельные партии семян хлопчатника урожая 1969—1970 гг. содержали исключительно высокие количества афлатоксинов (до 200 000—300 000 мкг/кг). Высокая частота загрязнения афлатоксинами семян хлопчатника отмечалась в 1977 г. в штатах Аризона и Калифорния: афлатоксины B_1 и B_2 обнаруживали во всех отобранных в поле образцах, причем средний уровень загрязнения составлял 387 мкг/кг [ВОЗ, 1982; FAO, 1979; Mirocha C. et al., 1980].

Кокосовые орехи и продукты из них являются важной составной частью рациона населения многих тропических и субтропических стран. По данным S. Arseculeratne и L. De Silva (1971), не менее 50% образцов пищевых продуктов из кокосовых орехов (копра, масло), отобранных в Шри-Ланка, содержали афлатоксин B_1 в умеренных (до 250 мкг/кг) или высоких (250—1000 мкг/кг) количествах. Интересно отметить, что на Филиппинах, на долю которых приходится более 50% мирового производства копры, а также 53% мирового экспорта копры и 23% экспорта кокосового масла, до 71% изученных образцов содержали афлатоксины в максимальной концентрации до 513 мкг/кг [FAO, 1979]. Афлатоксины были найдены в 88% образцов копры, импортируемой в США (до 30 мкг/кг), и в 63% образцов копры, импортируемой в Финляндию (до 100 мкг/кг) [ВОЗ, 1982; Labouche C., 1976].

Различные виды орехов также сравнительно часто подвергаются загрязнению афлатоксинами. Токсины были обнаружены в бразильских орехах, миндале, грецких орехах, фисташках, фундуке, кешью и орехах пекан. Например, в 1972 г. более 80% ввозимых в США из Ирана и Турции фисташках, содержали афлатоксины в количестве, превышающем 20 мкг/кг. В 8% образцов фундука из Турции были найдены афлатоксины в концентрации до 100 мкг/кг. В США в штате Калифорния в 14% образцов миндаля выявили афлатоксин B_1 в концентрации до 20 мкг/кг. В Югославии афлатоксины были обнаружены в 33% проб грецкого ореха, а в Тунисе — в более чем 50% образцов орешков алепской сосны (100—2000 мкг/кг) [Edds G., 1979, FAO, 1979; Sutic M. et al., 1982]. При систематическом исследовании миндаля, орехов пекан и грецких орехов, проводимом с 1969 по 1979 гг. в США, оказалось, что 1—15,8% образцов были загрязнены афлатоксинами, причем в 0,8—7,7% случаев в количестве, превышающем установленные нормы (20 мкг/кг) [Stoloff L., 1980].

В природных условиях в свежих овощах и фруктах афлатоксины встречаются редко. Показано, что некоторые выделенные из них штаммы A. *flavus* являются токсигенными. Имеются данные об обнаружении афлатоксинов в заплесневелых апельсинах, яблоках и некоторых других овощах и фруктах, а также в продуктах их переработки (соки, джемы, мармелад) [Fritz W., Engst R., 1981; Sutic M. et al., 1982; Sinha K., Anjana S., 1982; Gimeno A., Martins M., 1983]. В единичных случаях афлатоксины находили в растительных маслах (подсолнечном, оливковом), бобах кофе и какао, в некоторых пряностях и приправах, а также в винах и пиве [ВОЗ, 1982; Emerole G. et al., 1982; Udagawa S., 1982; Woller R., Majerus P., 1982].

Учитывая возможность накопления афлатоксинов или их метаболитов в тканях сельскохозяйственных животных, необходимо кратко остановиться на результатах изучения загрязнения афлатоксинами комбикормов и их ингредиентов. Афлатоксины в кор-

мах обнаруживают во многих странах довольно часто и в значительных концентрациях. Приведем несколько примеров. В США в штате Флорида в связи с токсикозами у свиней были проанализированы 2800 образцов кормов и кормовой кукурузы, из которых более 50% содержали афлатоксины в количестве 400 мкг/кг. В Великобритании за 1966—1978 гг. афлатоксин B_1 был найден в 13,6% изученных образцов кормов. В Польше 12,7% образцов комбикормов содержали афлатоксины, причем 4,2% — в концентрации выше 100 мкг/кг. В ФРГ афлатоксины обнаружили в 46 из 165 проб комбикормов в концентрации 7—300 мкг/кг, в Бразилии 25% образцов кормов, изученных за период 1971—1979 гг., содержали афлатоксины на уровне, превышающем 30 мкг/кг (максимальный уровень — 7800 мкг/кг [ВОЗ, 1982; Edds G. et al., 1980; Patterson D., Roberts B., 1980; Sabino M., 1980]. В Чехословакии афлатоксин B_1 в количестве более 10 мкг/кг был обнаружен в 8% образцов комбикормов в 1977 г. и в 2,25% образцов в 1978 г. [Bláha J., Lohnisky J., 1983]. В СССР афлатоксин B_1 в концентрации до 100 мкг/кг выявили в 2 из 121 образца комбикормов в Грузии и в 2 из 20 образцов в Казахстане [Двали Г. Н., 1983а; Кулманов М. Е., 1982].

Особого внимания заслуживают сведения об обнаружении афлатоксинов в продуктах животного происхождения — в молоке и тканях сельскохозяйственных животных, получавших корма, загрязненные афлатоксинами в высоких концентрациях. У коров, овец и коз, получавших загрязненные корма, в молоке обычно обнаруживают афлатоксин M_1 — метаболит афлатоксина B_1. Как отмечалось выше, с молоком экскретируется от 0,35 до 2—3% полученного с кормом афлатоксина B_1 в виде афлатоксина M_1 [Stoloff L., 1980]. Афлатоксин M_1 обнаруживают как в жидком цельном, так и в сухом порошковом молоке, молочных продуктах (табл. 14).

Обращает на себя внимание необычно высокий уровень афлатоксина M_1 (до 500 мкг/л), выявленный в более чем 50% проб коровьего молока, отобранных в мелких хозяйствах некоторых деревень Ирана в 1973—1974 гг. При этом в 8 пробах наряду с афлатоксином M_1 был обнаружен афлатоксин M_2, а в 2 пробах — и афлатоксин B_1, что указывает на исключительно высокий уровень загрязнения кормов афлатоксином B_1. В этом же исследовании подчеркивается, что в пробах молока, полученных из крупных хозяйств, афлатоксин M_1 был найден только в 10% образцов в количестве 8—10 мкг/л [Suzangar M. et al., 1976]. L. Stoloff (1980) отмечает корреляцию между высоким уровнем загрязнения кукурузы в юго-восточных штатах США в 1977 г. и частотой обнаружения афлатоксина M_1 в молоке в октябре — ноябре 1977: в 43% из 77 изученных образцов в штате Алабама; в 80% из 75 образцов в штате Джорджия; в 60% из 75 образцов в штате Южная Каролина и в 71% из 75 образцов в штате Северная Каролина. При этом уровень афлатоксина M_1 варьировал от 0,2 до 0,7 мкг/л.

При анализе 20 проб молока, взятых из торговой сети г. Алма-Аты в зимнее время, в 10 пробах был обнаружен афлатоксин B_1 в концентрации 0,1—0,5 мкг/л, а в двух из них и афлатоксин M_1 в количестве до 0,4 мкг/л. Это свидетельствует о вторичном загрязнении порошкового молока, из которого было приготовлено жидкое молоко [Шарманов Т. Ш. и др., 1984].

H. Van Egmond и соавт. (1982), анализируя результаты изучения загрязнения афлатоксином M_1 молока в Нидерландах, пришли к выводу о том, что снижение уровня афлатоксина M_1 в образцах 1981 г. (средний уровень 0,03 мкг/л) по сравнению с образцами 1972 г (18% образцов содержали афлатоксин M_1 в концентрации более 0,1 мкг/л) является следствием введения с 1976 г. регламентов и мониторинга за загрязнением афлатоксинами кормов для молочного скота.

Необходимо подчеркнуть (и это очень важно с практической точки зрения) высокую стабильность афлатоксина M_1 в молоке при различных условиях хранения (как при 0 °С, так и в замороженном состоянии) и технологической обработки (пастеризация, стерилизация, приготовление творога, йогурта, сыров и др.). Например, при получении сливочного масла 10% афлатоксина M_1 переходит в сливки, а 75% остается в снятом молоке. В процессе изготовления сыра в зависимости от исходного уровня загрязнения в творожной массе определяется 36—58% афлатоксина M_1. В дальнейшем в результате значительной потери воды содержание афлатоксина M_1 в готовом сыре может в $3^1/_2$—5 раз превышать исходный уровень загрязнения молока [Frémy J., Roiland J., 1979; Stoloff L., 1980; Wiseman D., Marth E., 1983].

В США афлатоксин M_1 был обнаружен в сырах, импортированных из ФРГ, Франции и Швейцарии — в 8% из 156 исследованных образцов в количестве 0,1—0,6 мкг/кг. В ФРГ исследования, проведенные в 1971 г., выявили афлатоксин M_1 в 34% из 222 образцов 19 различных видов сыров в концентрации 10 мкг/кг; в 1972—1977 гг. — в 48% из 356 образцов сыров в концентрации 0,1—1,3 мкг/кг и в 1976 г. — в 69% из 197 образцов в количестве 0,02—0,23 мкг/кг. Афлатоксин M_1 был найден также в 82% образцов йогурта в концентрации 0,05—0,5 мкг/кг. Имеются сообщения об обнаружении афлатоксина M_1 в сырах Греции (во всех 6 анализированных образцах в количестве 14—30 мкг/кг) и Тунисе (до 2 мкг/кг) [FAO, 1979; Stoloff L., 1980]. Следует иметь в виду, что при длительном хранении сыра уровень афлатоксина M_1 в нем существенно не снижается [Frémy J., Roiland J., 1979; Wiseman D., Marth E., 1983].

Большой интерес вызывает вопрос о возможности появления афлатоксинов в мышечной и других тканях сельскохозяйственных животных. В экспериментах доказано, что при достаточно высоком уровне загрязнения кормов афлатоксином B_1 он и его метаболиты (главным образом афлатоксин M_1) обнаруживаются в различных тканях крупного и мелкого рогатого скота, свиней, в мясе и яйцах домашней птицы, в мясе промысловой рыбы. Так, у ко-

Таблица 14. Частота и уровень загрязнения молока афлатоксином M_1 в некоторых странах

Продукт	Страна	Год наблюдений	Число изученных образцов	Число образцов, содержавших афлатоксин M_1	Уровень загрязнения, мкг/л или мкг/кг	Авторы, год
Молоко цельное	Бельгия	1975	68	42	0,01—0,5	I. Stoloff, 1980
	Великобритания	1977 1979	— 278	11,9% 85	Более 0,1 0,03—0,52	K. Jewers, 1982 ВОЗ, 1982
	Венгрия	1977—1979	80	4	0,06—0,08	É. Horváth и соавт., 1982
	ГДР	1977—1979	60	4	1,7—6,5	W. Fritz, R. Engst, 1981
	Индия	—	21	3	До 13,3	ВОЗ, 1982
	Италия	1979 1982	50 58	1 14	Более 0,4 —	G. Maffeo и соавт., 1980 S Castelli, A. Riberzani, 1982
	Иран	1973—1974				M. Suzangar и соавт., 1976
	мелкие хозяйства		67	36	50—500	
	крупные хозяйства		20	2	8—10	
	Испания	—	95	7	0,02—0,04	P. Burdaspal, L. Pinella, 1983

	Нидерланды	1972	95	74	0,09—0,5	H. Van Egmond и соавт., 1982
		1981	105	84	0,015—0,09	
	СССР	1981	20	2	0,35—0,4	Т. Ш. Шарманов и соавт., 1984
	США	1977	302	192	Следы — 3,9	L. Stoloff, 1980
	Турция	—	38	3	0,4	S. Kaya, 1982
	ФРГ	1972	61	28	0,04—0,25	L. Stoloff, 1980
		1972—1974	260	118	0,05—0,33	
		1976	419	79	0,05—0,54	
	Франция	1978—1982	387	9—31 %	0,01—0,06	J. Fremy и соавт., 1982
				1—15 %	0,2—0,5	
	Чехословакия	—	67	9	0,05—0,1	D. Veselá и соавт., 1982
Молоко порошковое	Австрия	1978—1979	1074	477	До 0,2	R. Pfleger, E. Brandl., 1980
	Венгрия	1977	20	1	0,2	E. Horváth и соавт., 1982
	США	1978	320	24	0,05—0,5	L. Stoloff, 1980
	ФРГ	1971	166	8	0,67—2	L. Stoloff, 1980
		1972	52	35	Следы — 4	
		1972—1974	41	30	0,02—0,2	
		1972—1973	120	75	0,02—0,4	
	ЮАР	1968	21	5	0,02—0,2	L. Stoloff, 1980

ров, получавших в течение 3 дней афлатоксин B_1 в дозе 0,35 мг/кг, через 24 ч афлатоксины B_1 и M_1 выявлялись во всех тканях (за исключением вилочковой железы), в молоке и крови. Афлатоксины B_1 и M_1 (последний в значительно более высоких концентрациях) были обнаружены во всех тканях бычков, получавших в течение $17^1/_2$ нед корм, загрязненный афлатоксином B_1 в количестве 352 - 455 мкг/кг [Stoloff L., 1983]. Афлатоксин B_1 обнаруживали в яйцах куропаток при содержании этого яда в корме в концентрации, превышающей 100 мкг/кг, в яйцах кур различных пород при его концентрации в корме, равной 3000 мкг/кг [Lotzsch R., Leistner L., 1977]. J. Cooper и соавт. (1982) нашли афлатоксин B_1 в низких концентрациях в мясных продуктах. Описан случай обнаружения афлатоксина B_1 в мышцах, печени и почках оленей (в концентрации 0,1—0,4 мкг/кг) и в мышцах и печени голубей (соответственно 0,03 и 64,2 мкг/кг), кормившихся на полях, где был снят урожай кукурузы, загрязненной афлатоксинами [Edds G., 1979].

Многие пищевые продукты, о загрязнении которых в природных условиях сведения отсутствуют, в лабораторных условиях служат хорошими субстратами для роста, развития и токсинообразования A. flavus. Например, доказана возможность накопления афлатоксинов в винограде и виноградном соке, в яблочном, томатном, абрикосовом и ананасовом соках, персиках, клубнике, смородине, вишне, картофеле, стручковом и черном перце, анисе и тмине, в корне женьшеня, в мясе, масле, маргарине и др. [Sakai T. et al., 1977; Seenappa M., Kempton A., 1980; Llewellyn G. et al., 1981, 1982, и др.].

Наряду с афлатоксинами в продовольственном сырье и пищевых продуктах обнаруживают стеригматоцистин. Его продуценты (некоторые виды Aspergillus и Bipolaris) выделены из различных зерновых продуктов, фруктов и фруктовых соков, мясных и молочных продуктов. Описаны случаи выявления стеригматоцистина в ячмене (до 400 мкг/кг), кукурузе (50 мкг/кг), пшенице, зеленых бобах кофе (1143 мкг/кг), сырах (5—600 мкг/кг), комбикормах (2300 мкг/кг) [Осипян Л. Л. и др., 1984; Bartoš J., Matyas Z., 1982, 1983; Abramson D. et al., 1983].

В последние годы значительное внимание уделяется изучению воздействия афлатоксинов на человека в производственных условиях, где возникает вероятность ингаляции и заглатывания загрязненной афлатоксинами пыли (переработка загрязненного арахиса, зерна, масличных — мукомольные, комбикормовые, маслопрессовые предприятия и др.). Исследования, проведенные в США, показали, что в местах хранения и переработки зерновых продуктов концентрация афлатоксина B_1 в воздухе может достигать 9—1120 нг/м³. При этом оказалось, что в частицах пыли с меньшим диаметром концентрация токсина выше: в частицах размером менее 7 мкм уровень афлатоксина превышал 1000 мкг/кг. В пробах пыли, образующейся при пересыпке зерна из бункеров в вагоны и обратно, среднее содержание афлатоксинов составляло

138 мкг/кг [Burg W. et al., 1981; Sorenson W. et al., 1981; Burg W., Shotwell O., 1984]. В лабораторных условиях показано, что при измельчении кукурузы с содержанием афлатоксина, равном 2,25 мг/кг, его концентрация в воздушной пыли превышает исходный уровень и достигает 2,56—4,56 мг/кг [Burg W. et al., 1981].

Итак, афлатоксины практически повсеместно распространены на всех континентах, загрязнению ими подвержено большинство основных продуктов питания населения. Безусловно, несравненно более высокие частота и уровень загрязнения этими токсинами пищевых продуктов характерны для стран с тропическим и субтропическим климатом. Вместе с тем расширение международной торговли может значительно способствовать распространению афлатоксинов.

ДЕТОКСИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ

Установление высокой токсичности и канцерогенности афлатоксинов и обнаружение их в значительных количествах в основных пищевых продуктах во всем мире привело к необходимости разработки эффективных способов обезвреживания загрязненных продуктов и кормов.

Влияние различных способов технологической и кулинарной обработки. Сравнение различных способов переработки продовольственного сырья и обычных приемов кулинарной обработки пищевых продуктов показало, что они приводят лишь к частичному снижению уровня загрязнения афлатоксинами. При помоле загрязненного зерна бóльшая часть токсинов остается в отрубях. При концентрации афлатоксина B_1 в пшенице 250 мкг/кг в муке его содержание снижалось до 130 мкг/кг, а в отрубях возрастало до 520 мкг/кг [Alti A., Kösker Ö., 1980]. Л. С. Львова и соавт. (1979) показали, что в процессе помола загрязненной пшеницы концентрация токсина в отрубях и муке второго сорта значительно превышала исходный уровень (соответственно 370—391% и 135—140%), а в муке высшего сорта снижалась до 25—49%. В процессе выпечки хлеба из загрязненной муки количество афлатоксинов уменьшалось на 60—80% [Львова Л. С. и др., 1975; Jemmali M., Lafont P., 1972; Alti A., Kösker Ö., 1980]. Значительно ниже содержание афлатоксинов и в пищевых продуктах, полученных при переработке загрязненной кукурузы. При мокром помоле зерна кукурузы значительная часть афлатоксинов удаляется с лузгой (зародыш+оболочки), в белковой и крахмальной части зерна остается менее 1% исходного количества токсинов. При высоком исходном уровне загрязнения кукурузы афлатоксинами (более 1000 мкг/кг) их остаточные количества в белковой и крахмальной части зерна были выше и составляли 1,7—9,8% исходного [Львова Л. С. и др., 1979, 1983]. В процессе

выработки рисовой крупы из загрязненного афлатоксином B_1 риса-зерна 55—74% токсина удалялось с лузгой, 18—32% — с мучкой, а в готовой крупе оставалось не более 12% исходного количества. Примечательно, что применение гидротермической обработки риса-зерна приводило к разрушению 91% афлатоксина B_1 и 92—93% афлатоксина G_1 [Львова Л. С. и др., 1984].

В процессе длительного (120 мин) кипячения загрязненной арахисовой муки содержание в ней афлатоксинов снижалось на 34%. Обжаривание ядер арахиса при 80 °С в течение 3 ч уменьшало концентрацию афлатоксина B_1 в них на 7%, а при 105 °С — на 60%. Близкие результаты были получены при обжаривании соевых бобов. Интересно, что концентрация афлатоксина B_1 не изменялась при нагревании арахисового и кукурузного масла при температуре 250 °С, близкой к точке плавления афлатоксинов [Marth E., Doyle M., 1979; El-Kady I., Farghaly M., 1981; Hamada A., Megalla S., 1982]. В то же время при традиционном для некоторых районов Бразилии способе обработки нелущеного арахиса — кипячении при 116 °С в 5% растворе NaCl в течение 30 мин — содержание афлатоксинов в нем уменьшалось на 80—100% [Farah Z. et al., 1983]. При варке риса в небольшом количестве воды (1 : 2) в течение 45 мин концентрация афлатоксинов в нем практически не изменилась, в то время как при варке в большом количестве воды (1 : 8) разрушалось 37% токсинов, а при варке под давлением степень разрушения афлатоксинов достигала 30—56% [Львова Л. С. и др., 1984].

Таким образом, обычные способы технологической и кулинарной обработки продовольственного сырья и пищевых продуктов, загрязненных афлатоксинами, не могут привести к полному обезвреживанию. Для достижения этой цели необходимы дополнительные мероприятия. Все способы обезвреживания можно разделить на две группы: различные приемы удаления токсинов, методы их разрушения и превращения в безвредные или малотоксичные соединения.

Методы детоксикации, основанные на удалении афлатоксинов. Наиболее эффективным способом обезвреживания некоторых видов продовольственного сырья и пищевых продуктов (орехи, кукуруза, арахис и др.) является их предварительная сортировка с использованием ручного труда, механических или электронных средств [Anderson R., 1983]. В процессе такой сортировки удаляются орехи или зерна с видимыми местами порчи (сморщивание, изменение цвета или обесцвечивание, наличие плесени и др.), в которых, как известно, главным образом и накапливаются афлатоксины. При характерной для арахиса и некоторых видов орехов исключительно выраженной неравномерности загрязнения афлатоксинами удаление пораженных и измененных орехов приводит к существенному снижению уровня загрязнения токсинами всей партии продукта в целом. Оптимальный эффект достигается при сочетании электронной и последующей ручной сортировки [Jemmali M., 1979].

В лабораторных условиях доказана возможность почти полного удаления афлатоксинов из различных сельскохозяйственных продуктов путем экстракции полярными растворителями: водным ацетоном, хлороформом; некоторыми азеотропными смесями, среди которых наиболее эффективна смесь ацетон : гексан : вода (50:48,5:1,5); 95% этиловым спиртом; метанолом, 80% изопропиловым спиртом. Экстракция загрязненной арахисовой муки солевыми растворами (1% $NaHCO_3$ или 1% $CaCl_2$ приводила к почти полному удалению афлатоксинов, однако при этом экстрагировалось и до 33% белков. Известен способ удаления афлатоксинов путем экстракции смесью вода : метоксиметан [Rayner E. et al., 1977; Jemmali M., 1979; Stahr H., Obioha W., 1982]. Высокая эффективность этих методов в лабораторных условиях делает перспективным их применение в промышленных масштабах, однако они имеют и существенные недостатки: требуют специального оборудования, особо чистых реактивов и, что самое важное, значительно изменяют химический состав продуктов, приводя к потере углеводов, белков и др. Все это затрудняет их практическое применение. Так, в США и Франции при использовании в промышленном масштабе метода экстракции смесью гексан : ацетон : вода для удаления афлатоксинов были получены результаты, несопоставимые с данными лабораторных испытаний, и подтверждена невозможность практического применения этого способа [Jemmali M., 1979].

Появились работы, доказывающие перспективность использования метода адсорбции афлатоксинов с целью их удаления из жидких пищевых продуктов. Показано, что многие сорта глины (18 из 19 изученных) способны адсорбировать 70—100% афлатоксина B_1 из различных жидкостей (изотонический раствор NaCl, пиво, молоко), причем в большинстве случаев необратимо [Masimango N. et al., 1978, 1979]. Степень адсорбции зависела от вида глины, характера ее предварительной термической обработки, pH среды. До 89% афлатоксина M_1 удаляли из молока путем адсорбции его на бентоните [Applebaum R., Marth E., 1982]. Однако этот метод требует дальнейшего изучения, в частности, надо ответить на вопрос о влиянии адсорбирующих веществ на физико-химические и органолептические свойства молока.

Методы детоксикации, основанные на разрушении афлатоксинов. Второй путь обезвреживания загрязненных афлатоксинами продуктов включает различные физические, химические и биологические методы деградации и инактивации афлатоксинов. Эти методы должны удовлетворять следующим требованиям: снижать уровень афлатоксинов в продукте до предельно допустимого без образования при этом каких-либо токсичных или канцерогенных метаболитов; вызывать по возможности деградацию спор и мицелия грибов-продуцентов, которые в благоприятных условиях могли бы вновь прорастать и вырабатывать токсины; не оказывать существенного влияния на органолептические свойства, химический состав и пищевую ценность продуктов.

Физические методы. Наиболее простым, но, к сожалению, мало эффективным физическим методом детоксикации афлатоксинов является термическая обработка загрязненных продуктов. Имеются сообщения из Индии и Шри-Ланка о резком уменьшении количества афлатоксинов в арахисовом и кокосовом масле при прямом действии на них солнечного света [Samarajeewa U. et al., 1977; Jemmali M., 1979]. При этом, однако, велика вероятность усиления окислительных процессов в масле.

Несмотря на то что афлатоксины отличаются очень высокой чувствительностью к действию ультрафиолетового излучения, данные о его использовании для обезвреживания загрязненных продуктов противоречивы [Marth E., Doyle M., 1979]. Изучение влияния ионизирующего облучения на афлатоксины показало, что только очень большие дозы γ-облучения водных растворов афлатоксинов B_1, B_2, G_1 и G_2 уменьшают их токсическое действие на куриные эмбрионы, а также мутагенные свойства [Ogbadu G., Bassir O., 1979; Van Dyck P. et al., 1982]. В то же время при воздействии больших доз γ-облучения на загрязненную арахисовую муку мутагенные свойства афлатоксина B_1 сохранялись [Temcharoen P., Thilly W., 1982].

Химические методы. Значительно более эффективными и перспективными являются химические методы инактивации афлатоксинов. Доказана возможность деградации афлатоксинов водными растворами сильных кислот и щелочей [Dollear F., 1969; Marth E., Doyle M., 1979]. При воздействии кислот афлатоксины B_1 и G_1 превращаются в значительно менее токсичные афлатоксины B_{2a} и G_{2a}, однако эти реакции проходят в условиях, неприемлемых для обработки пищевых продуктов. Действие различных неорганических и органических щелочей было проведено на большом числе загрязненных афлатоксинами сельскохозяйственных продуктов. Примером практического применения щелочей для инактивации афлатоксинов является стандартная технология получения рафинированных масел, включающая этап обработки раствором NaOH, в результате чего афлатоксины разрушаются почти полностью. Успешными оказались попытки детоксикации загрязненной афлатоксинами арахисовой муки гидроокисью кальция, метиламином, газообразным аммиаком или гидроокисью аммония [Giddey C. et al., 1977; Norred W., 1979; Schroeder T. et al., 1981; Anderson R., 1983, и др.]. Способность некоторых окислителей ($NaOCl$, $KMnO_4$, $NaBO_3$, H_2O_2) активно разрушать афлатоксины групп В и G в пищевых продуктах и кормах была подтверждена в биологических испытаниях обработанных продуктов, что позволило применять в практике некоторые окислители [Anderson R., 1983, и др.]. Заслуживают внимания данные E. Marth и M. Doyle (1979) о высокой активности по отношению к афлатоксинам B_1 и G_1 гидросульфитов, которые широко используются при изготовлении вин, фруктовых соков, джемов и сухофруктов.

Из перечисленных выше методов детоксикации загрязненных афлатоксинами пищевых продуктов следует выделить и охарак-

теризовать те, которые уже нашли практическое применение. По технологии, разработанной в США и Франции, в некоторых странах применяют газообразный аммиак или гидроокись аммония для обезвреживания шротов из семян масличных и кормовой кукурузы. Обработку аммиаком проводят при повышенных давлении и температуре, при этом разрушается 95—98% афлатоксинов. Важно отметить, что в условиях насыщения аммиаком погибают и грибы-продуценты. Доказана экономическая целесообразность этой обработки, стоимость ее составляет всего около 3% стоимости обезвреженного продукта [Jemmali M., 1979]. Детальная токсикологическая оценка кормов, подвергнутых детоксикации аммиаком, показала их безвредность для лабораторных и сельскохозяйственных животных, а также отсутствие в тканях животных афлатоксинов или их токсичных метаболитов [Norred W., 1979; Edds G., 1979; Norred W., Morrissey R., 1983]. При изучении пищевой ценности обезвреженных аммиаком кормовых продуктов установлена возможность снижения на 15—30% содержания в них цистина. В настоящее время обработка аммиаком широко применяется в сельскохозяйственном производстве [Brekke O. et al., 1979; Anderson R., 1983].

Подробно изучен механизм инактивации афлатоксинов в процессе их взаимодействия с аммиаком [Cucullu A. et al., 1976; Schroeder T. et al., 1981]. При повышенных давлении и температуре (100 °C) 73% продуктов реакции, полученных через час, были представлены афлатоксинами B_1 и D_1 ($C_{16}H_{22}O_5$; $\lambda_{макс}$ в метаноле 227 и 324 нм), фрагментами афлатоксина D_1 в соединением с молекулярной массой 206. Это соединение идентифицировано как дигидро-4-окси-6-метокси-2,3-b-бензфуран (схема 16).

Разработана технология обезвреживания кормов смесью монометиламина с $Ca(OH)_2$ в промышленных масштабах. После детоксикации кормов этим способом отмечалось лишь незначительное снижение их пищевой ценности: на 8% уменьшились усвояемость, содержание доступного лизина, метионина и цистина. Метод гарантирует необратимое разрушение более 95% исходного количества афлатоксина B_1 [Giddey C. et al., 1977]. Инактивация афлатоксина B_1 смесью монометиламина с $Ca(OH)_2$ аналогична действию аммиака (раскрытие лактонового кольца и последующее декарбоксилирование).

В Индии используется обезвреживание перекисью водорода загрязненных афлатоксином B_1 белковых изолятов из арахиса, предназначенных для пищевых целей. Стоимость обработки составляет около 15% стоимости белковых изолятов [Marth E., Doyle M., 1979; Jemmali M., 1979]. Для обезвреживания муки из арахиса и семян хлопчатника в Индии нашел применение метод озонирования при высокой температуре (100 °C). Озонирование приводит к разрушению в течение 2 ч 91% афлатоксинов B_1 и G_1 в муке из семян хлопчатника и в течение часа — 78% афлатоксинов B_1 и G_1 в муке из арахиса. Афлатоксин B_2 в меньшей степени поддается действию озона [Anderson R., 1983].

Схема 16.
Превращения афлатоксина B_1 при воздействии гидроокиси аммония.

Афлатоксин B_1 (ММ 312) — $+NH_4OH$ → (ММ 347) — $-NH_3$ → β-Кетокислота (ММ 330) — $-CO_2$ → Афлатоксин D_1 (ММ 286); β-Кетокислота (ММ 330) → (ММ 206)

Биологические методы. В основе биологических методов детоксикации продуктов лежит способность некоторых бактерий, дрожжей и микроскопических грибов разрушать или превращать афлатоксины в менее токсичные соединения [Ciegler A., 1978; Marth E., Doyle M., 1979; Anderson R., 1983]. Несмотря на значительное число исследований, полученные результаты не дают оснований предполагать, что в ближайшие годы биологические методы найдут практическое применение.

Детоксикация афлатоксинов в научно-исследовательских лабораториях. Для обработки биологических материалов, поверхности рабочих столов, рабочей одежды, пластин для тонкослойной хроматографии, стеклянной химической посуды, водных и масляных растворов афлатоксинов, а также их растворов в органических растворителях чаще используют обработку раствором гипохлорита натрия с последующим добавлением ацетона (конечная концентрация 5%) для разрушения образующегося 2,3-дихлор-афлатоксина B_1. Для обработки рук также применяют 5—6% раствор гипохлорита натрия (NaOCl), а для ополаскивания полости рта — 1% раствор пербората или бикарбоната натрия. Как показали результаты анализов, эффективность детоксикации с использованием NaOCl составляет 99% [Castegnaro M. et al., 1980].

Для обезвреживания содержащих афлатоксины кормов для лабораторных животных их обрабатывают аммиаком при повышенных температуре и давлении, а подстилочный материал — 5% раствором аммиака, после чего подвергают автоклавированию. Эффективность детоксикации составляет 95%.

Тушки лабораторных животных обрабатывают негашеной известью, эффективность детоксикации — 99%. Для обезвреживания различных лабораторных отходов, главным образом растворов, загрязненных афлатоксинами, рекомендуется использовать 0,4 М раствор $KMnO_4$ [Castegnaro M. et al., 1980].

Итак, несмотря на обилие (по сравнению с другими микотоксинами) данных об афлатоксинах, многие вопросы, имеющие важное теоретическое и практическое значение, требуют дальнейшего изучения. Во-первых, надо доказать причинную связь между поступлением с пищей афлатоксинов и развитием первичного рака печени у человека. Решению этого вопроса в значительной степени может помочь внедрение мероприятий по снижению воздействия афлатоксинов на человека в регионах, отличающихся высокой загрязненностью пищевых продуктов афлатоксинами и высокой частотой первичного рака печени. Во-вторых, требуется более детальное изучение роли афлатоксинов в развитии острых гепатитов и синдрома Рейе. Решающим фактором в получении ответа на эти вопросы являются широкое применение современных высокочувствительных методов количественного определения афлатоксинов (например, иммуноферментных) для выявления их в биологических жидкостях и биопсийном материале от больных и здоровых людей. В-третьих, нужна дальнейшая расшифровка молекулярных и клеточных механизмов действия афлатоксинов и путей их метаболизма. В-четвертых, необходимо изучение модифицирующего действия алиментарных факторов на канцерогенез, индуцированный афлатоксинами.

Глава III

Охратоксины

Охратоксины А, В и С представляют собой группу близких по структуре соединений, которые были впервые выделены в странах Южной Африки из культуры Aspergillus ochraceus [Van der Merwe K. et al., 1965a, b].

СТРУКТУРА, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И УСЛОВИЯ ОБРАЗОВАНИЯ

По своей структуре охратоксины являются изокумаринами, связанными пептидной связью с L-фенилаланином [Van der Merwe K. et al., 1965a, b]. Структура охратоксинов А и В была подтверждена путем химического синтеза [Steyn P., Holzapfel C., 1967]. Чаще всего как природный загрязнитель пищевых продуктов и кормов обнаруживается охратоксин А и в редких случаях — охратоксин В.

	R_1	R_2
Охратоксин А	Cl	H
Охратоксин В	H	H
Охратоксин С	Cl	C_2H_5

Охратоксины

Охратоксин А — бесцветное кристаллическое вещество, слабо растворимое в воде, умеренно растворимое в полярных органических растворителях (метанол, хлороформ), а также в водном растворе гидрокарбоната натрия. В химически чистом виде он нестабилен и очень чувствителен к действию света и воздуха, однако в виде раствора в этаноле может сохраняться без изменения в течение длительного времени. При кислотном или ферментном гидролизе (под действием карбоксипептидазы А и α-химотрипсина) охратоксина А образуется охратоксин α-(7-карбокси-5-хлор-3,4-дигидро-8-гидрокси-3-метилизокумарин) и освобождается L-фенилаланин. Охратоксин В — также кристаллическое вещество, представляющее собой несодержащий хлор аналог охратоксина А. Он в 50 раз менее токсичен, чем охратоксин А. Охратоксин С — этиловый эфир охратоксина А — аморфное вещество. В отличие от охратоксинов А и В он не обнаружен в качестве природного

загрязнителя пищевых продуктов и кормов. По токсичности этот токсин близок к охратоксину A [Steyn P., Holzapfel C., 1967]. В ультрафиолетовом свете охратоксин A обладает зеленой флюоресценцией, охратоксин B — голубой, а охратоксин C — бледно-зеленой. Основные физико-химические свойства охратоксинов суммированы в табл. 15.

Таблица 15. Основные физико-химические свойства охратоксинов*

Охратоксин	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Точка плавления, °C	Поглощение в ультрафиолетовой области**, ε (нм)	Флюоресценция, нм (цвет)
A	$C_{20}H_{18}ClNO_6$	403	169	36800 (213); 6400 (332)	475 (зеленый)
B	$C_{20}H_{19}NO_6$	369	221	37200 (218); 6900 (318)	(голубой)
C	$C_{22}H_{22}ClNO_6$	431	—	32700 (213); 4100 (331)	(бледно-зеленый)
α	$C_{11}H_8ClO_5$	256	229	30008 (212); 5600 (338)	(голубой)

* По данным K. Van der Merwe и соавт. (1965a, b); P. Steyn и C. Holzapfel (1967).
** Растворитель — этанол.

Микроскопические грибы — продуценты охратоксинов относятся к родам Aspergillus и Penicillium [Дончева И., 1976; Krogh P., 1978; Lillehoj E., Elling F., 1983]. Основными продуцентами являются A. ochraceus и P. viridicatum. Кроме этого, способность синтезировать эти токсины обнаружена у A. sulphureus, A. sclerotiorum, A. alliaceus, A. melleus, A. ostianus, A. petrakii, P. purpurrescens, P. commune, P. palitans, P. cyclopium, P. variabile и P. verruculosum. Оптимальная для роста A. ochraceus температура составляет 8—37 °C, а для токсинообразования — 12—37 °C, в то время как для P. viridicatum температурные оптимумы значительно ниже: для роста 0—31 °C, для синтеза токсинов — 16—24 °C. Некоторые штаммы P. viridicatum способны синтезировать охратоксин A при 5—10 °C [Harwig J., Chen J., 1974; Häggblom P., 1982; Lillehoj E., Elling F., 1983]. Именно поэтому в странах с умеренным и холодным климатом (Канада, Швеция, Норвегия, Финляндия, СССР) P. viridicatum является основным продуцентом охратоксинов.

К наиболее важным факторам, влияющим на токсинообразование, относится так называемая доступная влага (a_w) субстрата. Относительная a_w для синтеза охратоксинов A. ochraceus составляет 0,99, а для P. viridicatum — 0,95—0,99. Максимальный уровень продукции токсинов этими двумя видами грибов наблюдается между 8-м и 12-м днями культивирования [Дончева И., 1976]. P. Häggblom (1982) наблюдал максимальное образование охратоксина A на ячмене, зараженном A. ochraceus, при 25 °C на 28-й день инкубации. При увеличении концентрации кислорода в окружающей среде до 40% синтез охратоксина A подавлялся на 75%, а при повышении концентрации CO_2 более чем на 30% полностью прекращалась продукция токсинов независимо от количества кислорода [Paster N. et al., 1983].

В лабораторных условиях наибольшие количества охратоксинов образуются на природных субстратах (пшеница, рис, кукуруза). Некоторые штаммы A. ochraceus синтезируют на пшенице до 2,5 г/кг охратоксина A и до 0,9 г/кг охратоксина B. Максимальное содержание охратоксина A, синтезированного на кукурузе, составляет 0,9 г/кг, а охратоксина B — 0,05 г/кг [Harwig J., 1974]. Установлена взаимосвязь между споруляцией и токсинообразованием: условия, способствующие спорообразованию, усиливали и синтез охратоксинов [Häggblom P., 1982; Llilehoj E., Elling F., 1983]. Из полусинтетических сред роста наиболее благоприятной для синтеза охратоксинов оказалась среда, обогащенная 4% сахарозы и 2% дрожжевого экстракта. На синтетических средах лучшие результаты были получены при использовании в качестве источника углерода сахарозы и галактозы, а в качестве источника азота L-глутаминовой кислоты или уксуснокислого и азотнокислого аммония [Дончева И., 1975]. На уровень токсинообразования существенно влияет содержание в среде некоторых металлов. Например, синтез охратоксина A культурой A. ochraceus на ячмене усиливается в 9 раз при обогащении зерна цинком ($ZnSO_4$ в концентрации 1,0 мг/кг) [Chelkowski J. et al., 1981].

Обнаружено, что метионин и некоторые его структурные аналоги при добавлении в среду роста A. ochraceus резко подавляют продукцию токсинов [Lisker N. et al., 1983]. Спиртовой экстракт прополиса стимулирует синтез охратоксина A [Pepeljnjak S. et al., 1982]. Предварительное облучение спор A. ochraceus низкими дозами γ-лучей сопровождалось значительным усилением образования охратоксина A как на синтетической среде, так и природном субстрате (пшеница). Подавление прорастания спор и токсинообразования наблюдалось лишь при высоких дозах γ-облучения [Applegate K., Chipley J., 1976].

Важно иметь в виду, что в естественных условиях на синтез охратоксинов может влиять присутствие других токсигенных микроскопических грибов. Так, при совместном культивировании A. ochraceus и P. granulatum (продуцент патулина) синтез охратоксина A резко снижался [Escoula L., Larrien G., 1980].

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Охратоксины вместе с цитринином составляют группу микотоксинов, преимущественно поражающих почки. При остром охратоксикозе патологические изменения выявляются и в печени, желудочно-кишечном тракте, лимфоидной ткани. При длительном поступлении в организм небольших количеств охратоксинов функциональные и морфологические нарушения обнаруживаются главным образом в почках. В естественных условиях микотоксикозы связанные с загрязнением кормов охратоксином A, часто наблюдаются у свиней, цыплят-бройлеров, кур-несушек и индюшат [Elling F. et al., 1975; Hamilton P. et al., 1977, 1982; Krogh P., 1978; Visconti A., Bottalico A., 1983]. Описаны случаи охратокси-

коза у крупного рогатого скота и утят [Бондарчук А. И., Касрук И. М., 1984].

Нефропатия у свиней в некоторых странах (Дания, Швеция) носит эндемический характер и в отдельные годы частота заболевания варьировала от 0,6 до 65,9 случаев на 10 000 свиней. Было показано, что главным этиологическим фактором является охратоксин А, хотя определенную роль может играть и другой микотоксин — цитринин, который часто обнаруживается в кормах и зерновых продуктах вместе с охратоксином А. Важным доказательством в пользу ведущей роли охратоксина в этиологии нефропатии свиней является постоянное обнаружение его в ткани почек больных животных в количестве 2—68 мкг/кг. При анализе кормов в годы с высокой частотой заболевания были выявлены охратоксин А в 58% и цитринин в 9% проб. В Венгрии в 1980—1981 гг. частота нефропатии составляла в среднем 2 случая на 10 000 свиней. В 39% исследованных почек больных животных обнаружили охратоксин А, из которых в 80,9% образцов в концентрации до 10 мкг/кг, а в 10,6% — свыше 100 мкг/кг [Sandor G. et al., 1982]. Нефропатию у свиней наблюдали и в других странах Европы (Норвегии, Финляндии, Великобритании, ФРГ и Югославии).

Гистологические изменения, обнаруживаемые в почках свиней с нефропатией, характеризовались развитием дегенеративных и атрофических изменений эпителия проксимальных канальцев, интерстициальным фиброзом коркового слоя и гиалинизацией клубочков. Аналогичные изменения описаны при охратоксикозе у цыплят и индюшат [Krogh P., 1978]. Представляет интерес сообщение L. Rutqvist и соавт. (1978) о результатах систематического количественного определения охратоксина А в тканях практически здоровых свиней. При морфологическом исследовании почек у 32 из 34 животных был установлен фиброзный нефрит. Весьма важно, что охратоксин А был обнаружен в почках всех животных в количестве до 218 мкг/кг и в ряде случаев — в печени (26—65 мкг/кг) и плазме крови.

В условиях эксперимента картина нефропатии с характерным нарушением структуры и функции почек была воспроизведена у свиней и домашней птицы при скармливании кормов, искусственно загрязненных охратоксином А [Krogh P. et al., 1974; Carlton W., Krogh P., 1979; Dwivedi P., Burns R., 1984a]. Экспериментальный охратоксикоз был воспроизведен и изучен у крупного рогатого скота, коз, овец, собак, крыс, мышей, морских свинок, некоторых видов рыб. Как видно из данных табл. 16, величины LD_{50} значительно варьируют в зависимости от вида и линии, возраста, пола животных и способа введения токсина. Высокой чувствительностью к нефротоксическому действию охратоксина А отличаются собаки [Szczech G. et al., 1973]. При однократном введении токсина в дозе 3 мг/кг наступала быстрая гибель животных в течение 1—2 дней. Для коз LD_{50} охратоксина А составляла тоже около 3 мг/кг, для коров — 13 мг/кг [Ribe-

Таблица 16. Значения LD_{50} охратоксина A для различных видов животных [по Carlton W., Krogh P., 1974]

Вид животных	LD_{50}, мг на 1 кг массы тела	Способ введения
Цыплята породы белый леггорн		
1-дневные	3,4	Внутрь
10-дневные	10,7	То же
Индюшата	5,9	» »
Радужная форель	4,7	Внутрибрюшинно
Морские свинки		
самки	8,1	Внутрь
самцы	9,1	То же
Крысы		
самки	14,3	Внутрибрюшинно
	21,4	Внутрь
самцы	12,6	Внутрибрюшинно
	30,3	Внутрь
Мыши линии Swiss		
самки	25,7	Внутривенно
	44,7	Внутрибрюшинно
	62,4	Внутрь
самцы	33,9	Внутривенно
	40,2	Внутрибрюшинно
	58,3	Внутрь
Мыши линии CD-1, самки	22	Внутрибрюшинно
Перепела	16,5	Внутрь

lin W. et al., 1978]. Для 6-дневных куриных эмбрионов LD_{50} составляет менее 0,01 мкг на яйцо [Choudhury H., Carlson C., 1973]. Самки морских свинок и крыс более чувствительны к охратоксину A при введении его внутрь, чем самцы. P. Krogh (1978) также отмечает более высокую частоту заболевания нефропатией самок и молодых свиней.

Как уже отмечалось, токсичность охратоксинов A и C почти одинакова, в то время как охратоксин B значительно менее токсичен. Так, однократная LD_{50} охратоксина A для однодневных цыплят составляет 133—166, охратоксина C — 216 мкг на птицу, а охратоксина B — 1900 мкг на птицу [Chu F., Chang C., 1971]. Показано, что LD_{50} охратоксина C для радужной форели меньше, чем охратоксина A, и составляет всего 3 мг/кг, а охратоксин B даже в дозе 66,7 мг/кг не вызывал гибели рыб. Для утят LD_{50} охратоксинов A и C равняется соответственно 150 и 135—170 мкг на птицу, в то время как охратоксин B не оказывал токсического действия [Harwig J., 1974]. Поражения почек и печени, вызванные большими дозами охратоксинов B и C, были аналогичны изменениям, наблюдаемым при охратоксикозе A [Doster R. et al., 1974]. На основании экспериментальных данных W. Carlton и P. Krogh (1979) делают вывод, что максимально допустимая концентрация охратоксина A, не оказывающая токсического дейст-

ния, в кормах для цыплят-бройлеров составляет 0,3, для кур-несушек — менее 0,5 и для свиней — менее 0.2 мг/кг.

Характер клинических симптомов охратоксикоза также зависит от дозы и длительности периода введения токсина, вида и возраста животных. Наиболее общими признаками интоксикации являются снижение массы тела, потребление корма и уменьшение подвижности, полидипсия, полиурия, а также обезвоживание. У большинства видов (коров, свиней, собак, крыс, цыплят) наблюдается диарея как следствие поражения желудочно-кишечного тракта [Ribelin W. et al., 1978; Carlton W., Krogh P., 1979, и др.]. У крыс и особенно у цыплят-бройлеров при охратоксикозе А отмечались значительные нарушения процесса свертывания крови и геморрагический синдром [Galtier P. et al., 1979; Doerr J. et al., 1981]. У мышей при длительном введении охратоксина А было обнаружено резкое уменьшение (на 83%) числа тромбоцитов в периферической крови и содержания кальция (на 43%) в сыворотке крови. В костном мозге при этом снижалось количество клеточных элементов — предшественников эритроцитов (на 71%) и лейкоцитов (на 50%) [Gupta M. et al., 1983].

Установлено, что охратоксин А при внутрибрюшинном введении оказывает иммунодепрессивное действие на мышей и цыплят [Prior M., Sisodia C., 1982; Creppy E. et al., 1983; Boorman G. et al., 1984; Dwivedi P., Burns R., 1984b]. Это проявляется в подавлении антителообразования в ответ на введение Brucella abortus, уменьшении количества IgM- и IgG-образующих клеток в селезенке, подавлении реакции бласттрансформации лимфоцитов, стимулированных конканавалином А.

У морских свинок при охратоксикозе А наряду с некротическими изменениями почек, печени, желудочно-кишечного тракта и лимфоидной ткани наблюдались дегенеративные изменения в скелетных мышцах [Thacker H., Carlton W., 1977]. Токсическое действие охратоксина А на кур-несушек проявлялось также в снижении яйценоскости и уменьшении массы яиц [Prior M., Sisodia C., 1978]. У коров однократное введение этого токсина в дозе 13,3 мг/кг вызывало прекращение секреции молока [Ribelin W. et al., 1978].

Изменения биохимических показателей при остром охратоксикозе характеризуются увеличением уровня гемоглобина, общего белка, креатинина и азота мочевины в плазме крови; в сыворотке крови и моче возрастает активность лактат- и изоцитратдегидрогеназы, щелочной фосфатазы. Следствием поражения почек являются глюкозурия, протеинурия и кетонурия [Krogh P., 1978; Borndt W. et al., 1980]. Важно отметить, что активность ферментов в моче возрастает до появления морфологических признаков повреждения почек, что может иметь диагностическое значение [Szczech G., Carlton W., 1978].

Гистопатологические изменения, обнаруживаемые в почках, локализуются прежде всего в проксимальных извитых канальцах и варьируют по степени выраженности от незначительных дего-

ративных изменений до некрозов эпителиальных клеток. При длительном воздействии охратоксина А развивается интерстициальный фиброз, расширяются и атрофируются канальцы, появляются атрофические изменения клубочков [Krogh P., 1978; Kanisawa M. et al., 1977; Elling F., 1983]. При введении массивных доз охратоксина А обнаруживаются катаральные и эрозивные гастроэнтериты, жировая дегенерация и перипортальные некрозы печени, множественные некрозы в лимфатических узлах, вилочковой железе и селезенке. Ультраструктурные изменения в печени и почках проявляются главным образом в набухании и дезорганизации митохондрий, уменьшении мембран эндоплазматического ретикулума и увеличении числа свободных рибосом [Harwig J., 1974; Berndt W. et al., 1980; Dwivedi P. et al., 1984].

Токсическое действие охратоксина А может значительно усиливаться при одновременном введении его с другими микотоксинами. Большой интерес представляют в первую очередь данные о характере взаимодействия охратоксина А и цитринина — микотоксинов, часто одновременно загрязняющих пищевые продукты и корма. Доказан синергизм действия этих токсинов в опытах на мышах, собаках и морских свинках. Отмечалось увеличение смертности животных, степени выраженности клинических симптомов интоксикации и гистопатологических изменений внутренних органов [Kitchen D. et al., 1977; Krogh P., 1978]. Не было обнаружено потенцирования токсических эффектов охратоксина А и цитринина при их сочетанном введении 3-дневным куриным эмбрионам [Vesela D. et al., 1983].

В опытах на крысах удалось установить синергизм в действии охратоксина А и рубратоксина В, охратоксина и зеараленона [Hayes A. et al., 1977; Kazanas N. et al., 1984]. У мышей наблюдалось резкое усиление токсичности охратоксина А при одновременном введении пенициллловой кислоты, что, как полагают, связано с ингибированием этим микотоксином активности карбоксипептидазы А — фермента, ответственного за превращение охратоксина А в менее токсичный охратоксин α [Shepherd E. et al., 1981]. В опытах на артемии был выявлен синергизм токсического действия охратоксина А и трихотеценового микотоксина фузаренона X: при одновременном введении в среду этих микотоксинов в количестве, равном 1/2 среднепереносимой дозы, погибало более 60% артемий, в то время как в отдельности они вызывали гибель менее 20—30% артемий [Tanaka K. et al., 1979].

В процессе поиска чувствительных биологических тест-объектов для скрининга токсигенных штаммов микроскопических грибов, а также для подтверждения результатов химического анализа накоплены многочисленные экспериментальные данные о токсическом действии охратоксинов in vitro на различные клеточные системы, некоторые виды бактерий и простейшие.

На культуру клеток HeLa охратоксин А оказывал цитотоксическое действие только в концентрации 32 мкг/мл. В более низких концентрациях (3,2 мкг/мл) на этот тип клеток токсин

не влиял. Выраженные патологические изменения наблюдались в культуре эпителиальных клеток из почки обезьян [Steyn P. et al., 1975]. M. Prior и C. Sisodia (1979) подчеркивают, что охратоксин А индуцирует более выраженные гистологические и биохимические изменения в культурах клеток эпителиального типа, чем в фибробластоподобных клетках.

Среди бактерий высокой чувствительностью к охратоксинам А и В обладают Bacillus cereus v. mycoides. С их помощью можно выявить эти токсины в количестве соответственно 1,5 и 3 мкг. Охратоксин А в концентрации 12 мкг/мл вызывал автолиз культуры B. subtilis, а в более низких концентрациях (менее 10 мкг/мл) подавлял синтез белка. В таких же концентрациях охратоксин А подавлял рост и синтез белка и РНК в культурах B. stearothermophilus и Streptococcus faecalis [Harwig J., 1974; Signer U., Roschenthaler R., 1978; Bunge I. et al., 1978; Heller K., Roschenthaler R., 1978]. Не обнаружено какого-либо влияния охратоксина А в концентрации 100 и 400 мкг/мл на рост и функциональную активность простейших — Tetrahymena pyriformis [Hayes A. et al., 1974b]. Высокая чувствительность к действию этого токсина выявлена у личинок перцины и артемии: LC_{50} 1,7 и 10 мкг/мл, соответственно.

Изучение мутагенной активности охратоксина А с использованием теста Эймса показало, что токсин не индуцирует мутации ни при прямом воздействии, ни после предварительной инкубации с микросомами печени крыс или птиц [Prior M., Sisodia C., 1979]. E. Duricic и J. Opacic (1982) наблюдали индукцию хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей, она была максимальной через 48 ч после введения охратоксина А в дозе 5 мг на 1 кг массы тела.

Охратоксин А обладает сильными тератогенными свойствами, которые были выявлены в опытах на крысах, мышах, хомячках и куриных эмбрионах. Эмбриотоксическое и тератогенное действие этого токсина на мышей было более сильным, чем афлатоксина B_1 и проявлялось при его введении как на 8-й, так и 9-й день беременности [Hayes A. et al., 1974a; Arora R. et al., 1981]. При введении охратоксина А мышам линии CBA на 8-й день беременности в дозе 8 мг/кг погибало 69,2% плодов и уродства обнаруживали у 50% плодов, при введении токсина на 9-й день погибало 23,7% эмбрионов и у 100% обнаруживали различные аномалии развития: мозговые грыжи, анофтальмии, неправильное формирование скелета [Hood R. et al., 1978]. Изучение распределения [14][C]-охратоксина А у беременных мышей показало, что токсин может проникать через плацентарный барьер уже с 9 10 дня беременности и именно в этот период вызывает наиболее серьезные нарушения формирования плода [Applegren L.-E., Arora R., 1983]. У крыс линии Sprague — Dawley введение охратоксина А в дозе более 1 мг/кг на 6—15-й день беременности вызывало гибель почти всех плодов; в дозе, меньше 1 мг/кг, токсин индуцировал различные аномалии скелета и внутренних органов

эмбрионов [Brown M. et al., 1976]. J. Moré и соавт. (1978) не обнаружили аномалий развития у эмбрионов крыс линии Wistar при введении им охратоксина А. Внутрибрюшинное введение этого токсина хомячкам на 7—10-й день беременности сопровождалось увеличением смертности плодов и развитием уродств, среди которых наиболее частыми были гидроцефалия, недоразвитие челюсти, хвоста и пальцевых фаланг [Hood R. et al., 1976]. Введение охратоксина А куриным эмбрионам на 48-, 72- и 96-й часы инкубации в количестве более 0,02 мкг на яйцо приводило к развитию у 8-дневных плодов аномалий, среди последних чаще выявлялись мозговые грыжи, расщепление клюва, дефекты межжелудочковой перегородки сердца, стеноз аорты [Gilani S. et al., 1978; Vesela D. et al., 1983].

Длительное время считалось, что охратоксины не обладают канцерогенными свойствами, так как не удавалось индуцировать развитие опухолей у мышей и крыс при длительном введении токсина внутрь или подкожно [Carlton W., Krogh P., 1979]. Развитие гепатом наблюдали у радужной форели, получавшей с кормом охратоксин А в количестве 20 мкг на 1 кг корма и в качестве коканцерогена стеркуловую кислоту [Doster R. et al., 1971]. M. Kanisawa и S. Suzuki (1978) провели исследования на мышах линии ddY. Содержание животных в течение 45 нед на рационе, включавшем охратоксин А в концентрации 40 мг/кг, приводило к развитию гепатоцеллюлярного рака у 8 из 19 и опухолей почек — у 18 из 19 особей. У мышей, получавших дополнительно однократно афлатоксин B_1 в дозе 20 мг/кг в начале эксперимента, гепатоцеллюлярный рак обнаружили у 15 из 20 и опухоли почек — у 19 из 20 животных. По данным S. Bendele и соавт. (1983), карциномы почек развивались у 11 из 49 самцов мышей, получавших в течение 24 мес корм, содержащий охратоксин А в количестве 40 мг/кг. Несмотря на эти данные, вопрос о канцерогенности охратоксинов, в частности для человека, остается нерешенным [Linsell A., 1982].

МЕТАБОЛИЗМ; МОЛЕКУЛЯРНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Основным, если не единственным, путем поступления охратоксинов в организм является желудочно-кишечный тракт, в который попадает загрязненная токсинами пища. Исследованиями, проведенными на различных видах животных, доказано, что при введении внутрь всасывание охратоксина А начинается в желудке и завершается в тонкой кишке.

Тканевое и внутриклеточное распределение охратоксинов, экскреция. При однократном внутрижелудочном введении крысам охратоксина А в дозе 10 мг на 1 кг массы тела в течение первых 4 ч концентрация неизмененного токсина была максимальной в стенке желудка, а в ткани тонкой и толстой кишки его содержание оказалось незначительным. На основании этих данных P. Gal-

tier (1974) сделал вывод о преимущественном всасывании охратоксина А в желудке (у крыс). В последующих детальных исследованиях всасывания охратоксина А в различных участках желудочно-кишечного тракта крыс линии Wistar показано, что местом максимального всасывания токсина является проксимальный отдел тощей кишки, откуда он поступает непосредственно в воротную вену. При низких концентрациях охратоксина А не исключена возможность его проникновения через лимфатические пути [Kumagai S., Aibara K., 1982]. При введении этого токсина в просвет изолированной петли тощей кишки его концентрация в крови возрастала пропорционально уменьшению его содержания в просвете кишки, в то время как в лимфе уровень токсина изменялся незначительно. В эксперименте на свиньях было показано, что охратоксин В всасывается значительно хуже охратоксина А и быстрее гидролизуется в желудочно-кишечном тракте [Patterson D. et al., 1976]. При введении охратоксина А внутрь у свиней, кроликов и цыплят всасывалось соответственно 65,7, 55,6 и 40% введенной дозы [Galtier P. et al., 1981]. У крыс всасывалось 67,3% токсина, введенного внутрь натощак. У животных, не голодавших перед введением токсина, отмечались существенное уменьшение его всасывания в желудочно-кишечном тракте и значительно более позднее и на более низком уровне возрастание его концентрации в плазме крови [Galtier P. et al., 1979].

У крыс после однократного введения охратоксина А внутрь максимальная концентрация его в крови определялась через 4 ч. Токсин локализовался главным образом в почках, печени и миокарде, где его содержание было наибольшим также в первые 4 ч, несколько снижалось к 6—8-му часу и оставалось на относительно высоком уровне в течение 48 ч. Незначительные количества охратоксина А обнаруживались в ткани мозга, легких и жировой ткани [Suzuki S. et al., 1977]. Близкие результаты были получены при внутрижелудочном введении крысам ^{14}[C]-охратоксина А [Lillehoj E. et al., 1979]. В первые 3—12 ч значительные количества токсина выявляли в почках, легких, селезенке, печени, миокарде, слепой и подвздошной кишке. При этом отмечалась высокая концентрация токсина с максимумом через 12 ч в ткани желудка. При внутрибрюшинном введении ^{14}[C]-охратоксина А через 30 мин в сыворотке крови определялось 81% введенной дозы, причем главным образом в связанной с альбуминами форме. К этому сроку в печени и почках выявляли 3—5%, а через 24 ч — 1—2% исходного количества токсина [Chang F., Chu F., 1977]. При внутривенном введении через 1 ч в плазме крови определяли 43,5% и через 48 ч — 8,8% введенной дозы ^{14}[C]-охратоксина А. Не было обнаружено существенных количеств токсина в клетках крови [Galtier P. et al., 1979].

В первые часы после внутривенного введения меченого охратоксина А мышам высокий уровень радиоактивности был обнаружен (в порядке убывания) в печени, почках, крови, крупных сосудах, жировой ткани, миокарде, матке, лимфатической ткани

[Appelgren L., Arora R., 1983]. С помощью иммуногистохимического метода S. Lee и соавт. (1984) показали, что охратоксин A, введенный мышам per os, локализуется преимущественно в желудочно-кишечном тракте, почках и печени, в максимальных количествах — через 3 ч после введения. У свиней, так же как у крыс, введенный внутрь охратоксин A локализуется главным образом в почках, печени и жировой ткани [Krogh P. et al., 1976; Patterson D. et al., 1976]. Важно, что охратоксин A выявляли в печени и почках в течение 2 нед после прекращения его введения.

Через 6 ч после однократного введения ^{3}[H]-охратоксина A козам в печени и почках выявляли соответственно 1,5 и 0,5% введенного количества токсина [Nip W., Chu F., 1979]. При одновременном анализе внутриклеточного распределения охратоксина A в печени через 6 ч после его введения в ядрах обнаружили 9,7%, в митохондриях — 9%, во фракции эндоплазматического ретикулума — 46,6% и в цитозоле — 35% выявляющегося в печени количества токсина. При фракционировании ткани почек в ядрах было обнаружено 13,1%, в митохондриях — 8,8%, в микросомах — 25,6% и в цитозоле — 53% токсина. У цыплят после однократного внутрижелудочного введения ^{3}[H]-охратоксина A наибольшее его количество выявлялось через 8 ч в почках, кишечнике, печени и желудке. Через 48 ч в тканях было всего 5% количества, определяемого в первые 8 ч. У кур максимальное количество охратоксина A, введенного с кормом, также локализовалось в почках и печени. Например, в мышцах его концентрация была в 10 раз ниже, чем в печени. В желтке яиц содержание охратоксина A оказалось в 2 раза выше, чем в белке [Frye C., Chu F., 1977].

Охратоксины и их метаболиты выводятся из организма главным образом с мочой. При однократном внутрибрюшинном введении охратоксина A крысам за 24 ч с мочой выделялось более 50% исходного количества. При этом в моче наряду с неизмененным охратоксином A выявляли и продукт его гидролиза охратоксин α (10—20%). В течение этого же периода с фекалиями выводилось около 13% токсина, 77% из которых были представлены неизмененным охратоксином A [Chang F., Chu F., 1977]. При введении меченого охратоксина A внутрь около 56% введенного количества экскретировалось с мочой и калом за 120 ч. Экскреция была максимальной в первые 24—48 ч. Наряду с охратоксином A в первые 12—24 ч с мочой выделялись значительные количества охратоксина α. В первые 6 ч после введения в желчи выявляли около 33% исходного количества охратоксина A и незначительное количество охратоксина α [Suzuki S. et al., 1977]. S. Kumagai и K. Aibara (1982) показали, что наряду с почечной и печеночной экскрецией у крыс некоторое количество (сравнимое с концентрацией в желчи) охратоксина A может секретироваться слизистой оболочкой кишечника. У крыс при внутривенном введении этого токсина за 10 дней с мочой и фекалия-

ми выводилось соответственно 55,6 и 32,1% введенной дозы. Из них количество охратоксина α составляло соответственно 17,2 и 6,6% [Galtier P. et al., 1979].

У коз при однократном введении охратоксина А внутрь в течение 7 дней с мочой выделялось 54%, с фекалиями — 38% и с молоком — 6% введенной дозы [Nip W., Chu F., 1979]. Имеются сведения о его экскреции с молоком у кроликов. При однократном внутривенном введении им охратоксина А в дозе 4 мг/кг через 1 ч концентрация его в молоке составляла 1,02 мг/л и со временем постепенно снижалась до 0,128 мг/л через 24 и 0,04 мг/л — через 96 ч [Galtier P. et al., 1977]. Охратоксин А быстро выводится из организма цыплят и кроликов, но долго сохраняется у свиней. При введении внутрь период полужизни этого токсина у свиней составляет 88,8 ч, у кроликов — 8,25 ч и у цыплят — всего 4,15 ч [Galtier P. et al., 1981]. Период полужизни остаточных количеств токсина в почках, печени и мышечной ткани свиней равен соответственно 109, 104 и 76 ч [Krogh P. et al., 1976]. Период полужизни охратоксина А в организме крыс при внутрибрюшинном введении равен 12—18 ч, а при введении внутрь — 68 ч [Chang F., Chu F., 1977]. По данным P. Galtier и соавт. (1979), период полужизни токсина в организме крыс как при введении внутрь, так и внутривенно был примерно одинаковым — около 55 ч.

Различия в фармакокинетике охратоксина А у разных видов животных могут быть следствием различий скорости связывания токсина с альбуминами крови, особенностей пищеварения, а также скорости биотрансформации токсина в желудочно-кишечном тракте [Galtier P. et al., 1981]. Показано, в частности, что сывороточные альбумины свиньи обладают большим сродством к охратоксину А, чем альбумины цыплят или крыс. Кроме этого, у цыплят и кроликов наблюдается более быстрый транспорт охратоксина А в нижние отделы кишечника, где он подвергается гидролизу под действием ферментов микроорганизмов.

Метаболизм охратоксинов. Основными метаболитами охратоксинов А и В, обнаруживаемыми в моче и фекалиях различных видов животных, являются продукты их гидролиза — соответственно охратоксины α и β. Эти метаболиты, как было показано в опытах на цыплятах, малотоксичны даже в дозе более 1000 мкг на птицу [Chu F., 1975]. Отсутствие токсических свойств у охратоксина α было доказано и в экспериментах на крысах [Meisner H., Meisner P., 1981]. По различным данным и в зависимости от способа введения охратоксина А 6,6—27% введенной дозы экскретируется в виде охратоксина α [Galtier P. et al., 1979; Støren O. et al., 1982a]. При внутрижелудочном введении в толстой кишке 1—3% исходной дозы токсина выявляется в виде охратоксина α, а при внутривенном введении за 10 дней выделяется более 17% в виде охратоксина α [Galtier P., Alvinerie M., 1976; Galtier P. et al., 1979]. При введении охратоксина А в двенадцатиперстную кишку крыс в первые 5 ч в мезентериальной лимфе

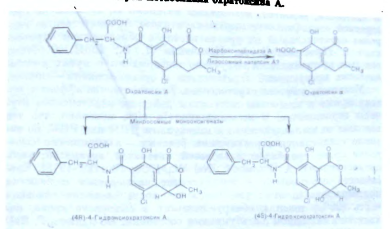
наряду с охратоксином А выявляли и охратоксин α [Støren O. et al., 1982]

В исследованиях in vitro было показано, что ферменты микрофлоры кишечника крыс способны активно гидролизовать охратоксин А с образованием охратоксина α [Galtier P., Alvinerie M., 1976]. Последний образуется при гидролизе охратоксина А некоторыми протеолитическими ферментами — карбоксипептидазой А и α-химотрипсином [Doster R., Sinnhuber R., 1972, и др.]. При инкубации охратоксинов А и В с тканевыми экстрактами печени, тонкой и толстой кишки крыс концентрация образующегося при этом охратоксина β была в 6—8 раз выше уровня охратоксина α [Doster R., Sinnhuber R., 1972]. S. Suzuki и соавт. (1977) при изучении превращения охратоксина А в охратоксин α гомогенатами различных тканей крыс in vitro наблюдали образование охратоксина α только в присутствии гомогенатов поджелудочной железы, двенадцатиперстной и тонкой кишки.

F. Stormer и J. Pedersen (1980), O. Støren и соавт. (1982b) при введении крысам внутрибрюшинно охратоксина А обнаружили в моче наряду с охратоксином α второй метаболит, обладающий зеленой флюоресценцией в ультрафиолете. Этот метаболит был выделен и идентифицирован как (4R)-4-гидроксиохратоксин А. Его количество, выделенное с мочой за 5—6-дневный период, составляло 0,8% введенной внутрибрюшинно или 1,6% введенной внутрь дозы охратоксина А. При инкубации фракции микросом печени крыс с охратоксином в присутствии NADPH-генерирующей системы наблюдалось образование трех более полярных, чем охратоксин А, метаболитов. Основным из них (90%) был 4-гидроксиохратоксин А. Реакция гидроксилирования охратоксина А полностью подавлялась метирапоном и CO, а при замещении NADPH на NADH ее скорость снижалась до 24%. Предварительное введение крысам фенобарбитала приводило к возрастанию скорости реакции в $3^1/_2$ раза.

C. Hansen и соавт. (1982) обнаружили (4R)-4-гидроксиохратоксин А в моче и кале крыс при введении охратоксина А как внутрь, так и внутрибрюшинно. Авторы показали, что в культуре гепатоцитов крысы около 4,5% охратоксина А подвергается гидроксилированию с образованием двух эпимеров: (4R)- и (4S)-4-гидроксиохратоксинов А (схема 17); их соотношение составляло 100:1. Соотношение этих эпимеров, образующихся in vitro при инкубации микросом печени крыс с охратоксином А, равнялось 8:1 [Størmer F. et al., 1981]. При гидроксилировании охратоксина А микросомными ферментами печени человека соотношение образующихся (4R)- и (4S)-4-гидроксиохратоксинов А составляло 1,5:1, в то время как в системе с микросомной фракцией из печени свиньи количество образующегося (4S)-4-гидроксиохратоксина А превышало уровень (4R)-эпимера. При инкубации охратоксина А с микросомами из печени кроликов в присутствии NADPH-генерирующей системы наряду с (4R)- и (4S)-4-гидроксиохратоксинами А был обнаружен 10-гидроксиохратоксин А. Об-

Схема 17.
Пути метаболизма охратоксина А.



разование этих метаболитов подавлялось метирапоном и CO и значительно усиливалось после предварительного введения животным фенобарбитала [Størmer F. et al., 1983].

Таким образом, получены убедительные доказательства в пользу того, что в печени различных видов животных охратоксин А может подвергаться гидроксилированию при участии микросомных монооксигеназ, связанных с цитохромом P-450, с образованием (4R)-4-гидроксиохратоксина А и в значительно меньшем количестве (4S)-4-гидроксиохратоксина А.

Необходимо отметить, что 4-гидроксиохратоксин А был обнаружен как естественный метаболит P. viridicatum [Hutchison R., Steyn P., 1971]. В опытах на животных он оказался малотоксичным производным охратоксина А. При введении крысам это вещество не оказывало какого-либо токсического действия в дозах до 40 мг на 1 кг массы тела. В связи с этим гидроксилирование охратоксина А микросомными ферментами следует рассматривать как один из путей детоксикации охратоксина А в организме. Однако, как подчеркивают F. Størmer и P. Pedersen (1980), значение этого пути не велико, так как скорость гидроксилирования охратоксина А в микросомах очень низкая — она более, чем в 80 раз меньше скорости гидроксилирования афлатоксина B_1 в афлатоксин M_1.

Метаболизм охратоксинов вряд ли можно считать окончательно изученным. Имеются сообщения об обнаружении и других еще не идентифицированных метаболитов охратоксина А, как экстрагируемых эфиром, так и водорастворимых и отличающихся по своим свойствам от охратоксина α и 4-гидроксиохратоксинов А [Galtier P. et al., 1979; Nip W., Chu F., 1979]. Есть все основания полагать, что определенную роль во внутриклеточном метаболиз-

ме охратоксинов, кроме эндоплазматического ретикулума, играют и лизосомы с их мощной системой протеолитических ферментов. В частности, вероятно, лизосомный катепсин А, близкий по субстратной специфичности карбоксипептидазе А, ответствен за гидролиз охратоксина А на уровне клеток с образованием охратоксина α [Тутельян В. А., Кравченко Л. В., 1981]. Особенно важным представляется получение информации о путях метаболических превращений охратоксинов в органе-мишени — почках.

Механизм действия охратоксинов. Биохимические эффекты, молекулярные и клеточные механизмы действия охратоксинов изучены недостаточно. В исследованиях in vitro показано, что эти токсины не взаимодействуют с молекулами ДНК или РНК, но активно связываются с различными белками — альбуминами сыворотки крови, тромбином, альдолазой, каталазой, аргиназой, карбоксипептидазой А [Pitout M., Nel W., 1969; Chu F., 1975]. Способность охратоксина А нековалентно связываться с белками подтверждена in vivo: уже через час после введения основная часть (90%) токсина, обнаруживаемого в сыворотке крови, находится в связанном с альбуминами состоянии. По данным P. Galtier (1979), охратоксин А образует более прочные связи с альбуминами сыворотки крови крупного рогатого скота, свиньи и человека, чем с альбуминами лошади, цыплят и крыс. Установлена определенная зависимость между способностью охратоксинов связываться с сывороточными альбуминами и степенью их токсичности: с 1 моль бычьего сывороточного альбумина связывается 2,47 моль охратоксина А, 1,93 моль охратоксина В, 3,24 моль — охратоксина С и всего 1,03 и 1,01 моль — охратоксинов α и β [Chu F., 1974, 1975]. Считают, что соединение с белками осуществляется за счет образования гидрофобных и ионных связей. Одним из предполагаемых мест связывания является фенольный гидроксил изокумариновой части молекулы токсинов. Интересно, что с возрастанием константы диссоциации гидроксильной группы повышаются степень связывания охратоксинов с альбуминами и их токсичность [Chu F., 1974, 1975]. Вероятно, что интенсивность связывания охратоксинов с сывороточными и тканевыми белками (в частности, ферментами) определяет скорость транспорта их к органам-мишеням и степень выраженности их биологической активности.

Результаты изучения влияния охратоксинов на синтез макромолекул свидетельствуют о том, что охратоксин А ингибирует синтез белка и РНК, но не действует на синтез ДНК. В опытах на B. subtilis и S. faecalis охратоксин А в концентрации 10 мкг/мл через 30 мин подавлял синтез РНК на 35%, а белка — на 70%. В культуре клеток гепатомы токсин в концентрации 90 мкМ вызывал резкое подавление биосинтеза белка уже через 30 мин, в значительной степени ингибировал синтез РНК после 120 мин инкубации, но не влиял на синтез ДНК в течение всего периода наблюдений (5 ч) [Creppy E. et al., 1980b]. В исследованиях in vivo охратоксин А вызывал существенное (на 40%) снижение

синтеза белков цитозоля клеток почек крыс [Meisner H., Selanik P., 1979].

В основе молекулярных механизмов ингибирующего действия охратоксина А на биосинтез белка лежат, как было показано в опытах на B. subtilis, избирательное уменьшение концентрации фенилаланилацил-тРНК и увеличение периода существования полисом [Röschenthaler R. et al., 1981]. В последующих экспериментах с частично очищенными препаратами фенилаланилацил-тРНК-синтетазой обнаружили, что этот токсин действует как аналог фенилаланина и подавляет активность фермента (на 67% при концентрации 15 мкг/мл) по конкурентному типу. Охратоксин А действовал как конкурентный ингибитор и в отношении фенилаланилацил-тРНК-синтетазы из дрожжей, печени крысы и морской свинки. Аналогичным действием обладал и (4R)-4-гидроксиохратоксин А [Creppy E. et al., 1983a, b]. При этом в большей степени они ингибировали первую стадию реакции образования фенилаланилацил-тРНК — стадию активации аминокислоты. Таким образом, можно сделать вывод, что ингибирующее действие охратоксина А на биосинтез белка является следствием подавления процесса аминоацилирования фенилаланин-тРНК. Это подтверждают данные о защитном действии фенилаланина в отношении токсических эффектов охратоксина А. Например, внутрибрюшинное введение мышам фенилаланина одновременно с охратоксином А (LD_{50}) предотвращало гибель животных в 100% случаев [Creppy E. et al., 1980a]. Внесение в среду инкубации фенилаланина полностью защищало культуру клеток гепатомы от цитотоксического действия охратоксина А [Creppy E. et al., 1979]. Фенилаланин снимал и иммунодепрессивное действие этого токсина как на гуморальный, так и клеточный иммунитет [Haubeck H. et al., 1981; Klinkert W. et al., 1981].

Уже в самых ранних исследованиях отмечалось, что охратоксины значительно нарушают обмен углеводов. По данным I. Purchase и J. Theron (1968), однократное введение крысам охратоксина А в дозе 10 мг/кг приводило к 6—10-му дню к накоплению в печени гликогена. При этом в печени крыс достоверно снижалась активность фосфорилазы на фоне сохранения на нормальном уровне активности гексокиназы и глюкозо-6- фосфатдегидрогеназы [Pitout M., 1968]. При изучении динамики изменения содержания гликогена в печени при интоксикации охратоксином А (однократное введение внутрь в дозе 15 мг/кг) оказалось, что выраженное снижение содержания гликогена наблюдается только в первые 4 ч, а в течение последующих 5 дней оно восстанавливается до исходного уровня. При введении токсина в меньших дозах вообще не было выявлено какого-либо изменения в содержании гликогена в печени. Активность гликогенсинтетазы при этом была сниженной, а фосфорилазы — повышенной [Suzuki S., Satoh T., 1973; Suzuki S. et al., 1975].

В отличие от крыс у цыплят-бройлеров, получавших в течение 3 нед охратоксин А с кормом, концентрация гликогена в

печени возрастала в 4 раза и структура печени при этом напоминала морфологическую картину гликогеноза типа X [Huff W. et al., 1979; Warren M., Hamilton P., 1980]. Интересно, что введение глюкагона, выполняющего роль триггера системы фосфорилаз печени, не приводило к мобилизации гликогена. Добавление цАМФ к экстрактам печени не сопровождалось увеличением активности протеинкиназы. Результаты этих исследований позволяют предположить, что причиной накопления гликогена в печени цыплят при охратоксикозе являются подавление активности цАМФ-зависимой протеинкиназы и, как следствие этого, — недостаточность фосфорилазы.

H. Meisner и соавт. (1979, 1981, 1983) показали, что охратоксин А значительно нарушает процесс глюконеогенеза в почках экспериментальных животных. В дозе всего 0,01 мг на 1 кг массы тела он подавлял активность ключевого фермента глюконеогенеза фосфоенолпируват-карбоксилазы почек крыс. При увеличении дозы до 1 мг/кг активность этого фермента снижалась в 2 раза, а активность пируваткарбоксилазы и глутаминазы не изменялась. Авторы подчеркивают, что в отличие от охратоксина А охратоксин α не влиял на активность фосфоенолпируват-карбоксилазы почек в дозе до 2 мг/кг. В срезах коры почек крыс, которым вводили охратоксин А в дозе 1,9 мг/кг в течение 7 дней, активность фермента была снижена на 60—80%, а скорость образования глюкозы из малата, глутамата, лактата и пирувата — на соответственно 28, 32, 39 и 69% [Meisner H., Selanik P., 1979]. При непосредственной инкубации охратоксина А со срезами влияние токсина на активность фосфоенолпируват-карбоксилазы было незначительным. H. Meisner и соавт. (1983) удалось показать, что этот токсин уменьшает в почках крыс концентрацию иРНК, кодирующей фосфоенолпируват-карбоксилазу, но не влияет на ее содержание в печени. Интересно, что в выделенных ядрах скорость транскрипции общей РНК или иРНК-фосфоенолпируват-карбоксилазы не была сниженной. Одной из возможных причин обнаруженного уменьшения содержания иРНК является, по-видимому, усиление процесса ее деградации.

Некоторые авторы обращают внимание на то, что охратоксин А интенсивно связывается с гидрофобными участками мембран митохондрий печени крыс и практически не связывается с плазматической мембраной [Moore J., Truelove B., 1970; Meisner H., Chan S., 1974; Meisner H., 1976]. Это взаимодействие сопровождается нарушением структурных и функциональных свойств митохондрий. В опытах in vitro было установлено, что охратоксин А блокирует транспорт электронов в пункте III дыхательной цепи и нарушает процесс окислительного фосфорилирования. В отличие от этого токсина охратоксин В не влиял на тканевое дыхание и сопряженный с ним синтез АТФ.

При введении крысам охратоксина А в дозе, соответствующей LD_{50}, было обнаружено умеренное изменение активности ферментов эндоплазматического ретикулума печени: увеличение содер-

жания цитохрома Р-450 (на 28%), активности NADPH-зависимых дегидрогеназы и цитохром с-редуктазы (на 17—20%), снижение активности анилингидроксилазы на 18% [Siraj M. et al., 1981]. Однако вряд ли можно считать эти изменения сколько-нибудь специфическими.

W. Berndt и соавт. (1984) считают, что нефротоксическое действие охратоксина А может быть связано с увеличением в почках внутриклеточного содержания кальция.

В основе обнаруженного при охратоксикозе геморрагического синдрома, как показали исследования на крысах и цыплятах, может лежать вызванное охратоксином А снижение содержания в плазме крови некоторых факторов свертывания крови, особенно фибриногена и фактора VII, а также факторов II, V и X [Galtier P. et al., 1979; Doer J. et al., 1981].

Итак, мы еще далеки от расшифровки механизма действия охратоксинов. Ясно, что только ингибированием синтеза белка и РНК, нарушением обмена гликогена нельзя объяснить все стороны токсического действия охратоксинов. Не намечены пока еще и подходы к расшифровке механизма органоспецифического действия охратоксинов.

ОХРАТОКСИНЫ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Значение охратоксинов в патологии человека изучено мало. Единственной общепринятой гипотезой является предположение о ведущей роли этих микотоксинов в этиологии хронического заболевания почек, известного под названием балканской эндемической нефропатии.

Эндемическая нефропатия наблюдается только в определенных районах Болгарии, Румынии и Югославии. Первые сведения об этом заболевании были опубликованы в середине 50-х годов. По данным Европейского регионального бюро ВОЗ (1965), в Болгарии было зарегистрировано 3000, в Румынии — 3000, в Югославии — около 16 000, в том числе в Боснии—3000, в Хорватии—700—1000, в Сербии — 4000 и в Моравии — 8000 случаев заболевания [Ахметели М. А., 1973]. В Югославии, в районе с наиболее высокой частотой эндемической нефропатии, заболеванием охвачено 3—8% населения и смертность от него составляет 1—3 человека на 1000 жителей в год [Hrabar A. et al., 1976]. Этот показатель довольно стабилен и не изменяется на протяжении последних 20 лет.

Болезнь обычно начинается в возрасте 30—50 лет и характеризуется медленным развитием клинических симптомов. На ранних стадиях больные жалуются на неопределенные боли в поясничной области, головную боль, повышенную утомляемость, отсутствие аппетита. При осмотре отмечаются бледность кожных покровов, иногда пожелтение кожи ладоней и подошв; артериальное давление не увеличено. Характерными симптомами эндемической нефропатии являются анемия, выраженная протеинурия,

глюкозурия, снижение максимальной секреции п-аминогиппуровой кислоты (указывающее на нарушение функций канальцев проксимального отдела нефрона), нарушение концентрационной способности почек. Почки заметно уменьшаются в размерах. Гистопатологические изменения выражаются в дегенеративных изменениях канальцев, интерстициальном фиброзе и гиалинизации клубочков. Заболеванием чаще страдают женщины [Ахметели М. А., 1973; Dochev D., 1973; Heptinstall R., 1974; Hrabar A. et al., 1976; Berndt W. et al., 1980].

В исследованиях, проведенных в Болгарии и Югославии, выявлена высокая частота случаев опухолей мочевыводящих путей в районах, эндемичных по нефропатии [Petrinska-Venkowska S., 1965; Petkovic S. et al., 1966; Nicolov I. et al., 1978]. S. Petrinska-Venkowska (1965) при анализе результатов анатомо-гистологических исследований в 37,7% случаев обнаружила полипы, папилломы и карциномы мочевыводящих путей. S. Petkovic и соавт. (1966), наблюдавшие в течение длительного времени за больными раком печени и мочевыводящих путей, также отмечает, что большинство этих больных проживают в районах: эндемичных по нефропатии.

М. А. Ахметели (1973) обращает внимание на ряд эпидемиологических особенностей эндемической нефропатии: заболевание поражает исключительно жителей сельской местности и не отмечается в близлежащих городах; характерна выраженная «семейственность» заболевания, т. е. болеют, как правило, члены одной семьи; в одном и том же селении существуют зоны, отличающиеся по частоте заболеваемости; заболевание чаще встречается в долинах, чем в горной местности; в зонах, эндемичных по нефропатии, наблюдается высокая заболеваемость почек среди домашних животных.

В качестве возможных этиологических факторов нефропатии были изучены инфекционные агенты (бактерии, вирусы), генетические факторы, токсичные металлы, но ни одна из выдвигаемых гипотез не была подтверждена экспериментальными исследованиями и ни одна из них не объясняет эпидемиологических особенностей эндемической нефропатии [Puchlev A., 1974]. В 1960 г. болгарскими учеными было выдвинуто предположение о роли микотоксинов в этиологии этого заболевания. Позднее P. Krogh (1974, 1978, 1979, 1983) отметил сходство изменений структуры и функциональной активности почек у людей, страдающих эндемической нефропатией, и свиней с нефропатией, вызванной употреблением кормов, загрязненных охратоксином А. Эндемический характер распространенности этих двух заболеваний также позволяет предположить существование общего этиологического фактора. На идентичность симптомов почечной недостаточности и гистологических изменений извитых канальцев проксимального отдела нефрона у людей с эндемической нефропатией и животных с экспериментальной нефропатией, вызванной охратоксином А и(или) цитринином, указывают W. Berndt и соавт. (1980).

В пользу микотоксинной природы эндемической нефропатии свидетельствуют и данные о частоте и уровнях загрязнения пищевых продуктов и кормов нефромикотоксинами в очагах заболевания [Krogh P. et al., 1977; Pavlović M. et al., 1979; Pepeljnjak S., Cvetnić Z., 1981]. Высокая загрязненность охратоксином А продовольственного зерна, хранившегося главным образом в домашних условиях, в определенной степени может объяснять некоторые характерные особенности эпидемиологии эндемической нефропатии: локализацию очагов только в сельской местности, «семейный» характер, выраженную очаговость в пределах одного селения.

Как уже отмечалось, одним из основных факторов, влияющих на образование грибами-продуцентами охратоксинов, является влажность субстрата. В связи с этим представляют интерес данные, указывающие на наличие в определенные периоды положительной корреляции между повышенным выпадением осадков в конце лета в эндемичных зонах Болгарии, Румынии и Югославии, с одной стороны, и возрастанием смертности от нефропатии в последующие 2—4 года в этих районах, с другой [Austwick P., 1975, 1983]. Как указывают K. Hult и соавт. (1982), до 17% образцов крови, взятых у людей, проживающих в эндемичной по нефропатии зоне Югославии в 1979 г., содержали охратоксин А, из которых 63% — в концентрации 1—2 нг/мл. Безусловно, эти данные являются косвенным доказательством в пользу повышенного потребления с пищей охратоксина А населением эндемичных очагов.

В то же время результаты более поздних исследований не кажутся столь убедительными. Так, при анализе образцов зерна и гороха урожая 1972 и 1978 гг. в одном из эндемичных районов Югославии не было выявлено различий в частоте обнаружения охратоксина А в образцах, отобранных в семьях, в которых были и не были зарегистрированы случаи заболевания [Hlubna D., 1982]. S. Pepeljnjak и I. Balzer (1982) проводили микологические и микотоксикологические исследования в 1972—1979 гг. в районах Хорватии, эндемичных и неэндемичных по нефропатии. Полученные данные не позволяют сделать вывод о существовании различий в составе микрофлоры и в уровне загрязнения микотоксинами зерна, бобовых и овощей в этих районах. Только в период 1978—1979 гг. концентрация охратоксина А была значительно выше в образцах кукурузы из районов, эндемичных по нефропатии. При анализе образцов сыворотки крови, проведенном в 1980 г. в Югославии, охратоксин А был обнаружен у 6% людей, проживающих в зоне с высокой частотой заболеваемости эндемической нефропатией, и у 7,8% человек в зоне, где не отмечались случаи этого заболевания [Hult K. et al., 1982].

Эти данные существенно отличаются от результатов анализов 1979 г. и указывают на необходимость длительного мониторинга за наличием охратоксина А в сыворотке крови определенной группы населения с целью установления роли охратоксинов в этиоло-

гии эндемической нефропатии. Кроме этого, для подтверждения микотоксинной гипотезы необходимо проведение широких исследований в различных регионах Земли с целью получения дополнительных доказательств строгой ограниченности распространения заболевания в пределах стран Балканского полуострова.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ОХРАТОКСИНАМИ

Первое сообщение об охратоксине А как природном загрязнителе кукурузы относится к 1969 г. [Shotwell O. et al., 1969]. Результаты последующих исследований показали, что зерновые и среди них в первую очередь кукуруза, пшеница и ячмень, являются основными растительными субстратами, в которых обнаруживаются охратоксины. Данные о частоте и уровне загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов охратоксином А суммированы в табл. 17. Как видно из приведенных данных, охратоксин А в пищевых продуктах был обнаружен в ряде стран Европы, США и Японии; частота выявления варьирует от 1 до 56% (без учета риса), а уровень загрязнения — от 5 до 68 900 мкг/кг. Следует подчеркнуть, что наиболее высокая загрязненность охратоксином А кукурузы (до 56% изученных образцов с содержанием токсина до 69 000 мкг/кг) выявлена в Югославии в районе с высокой заболеваемостью населения балканской эндемической нефропатией [Pepeljnjak S., Balzer I., 1982].

Значительно выше средний уровень загрязнения охратоксином А кормового зерна и различных видов комбикормов. В Дании, например, в районах с высокой частотой заболеваемости нефропатией у свиней, до 58% образцов ячменя содержали охратоксин А в количестве 28—27 500 мкг/кг [Krogh P., 1978]. Этот токсин был обнаружен в кормовом зерне (ячмень, пшеница, овес, кукуруза, рожь) в Канаде (56,3% образцов, токсин в количестве 30—27 000 мкг/кг), Польше (концентрация до 1200 мкг/кг), Швеции (до 409 мкг/кг), Югославии (до 5125 мкг/кг), Австрии (до 600 мкг/кг) [Krogh P., Nesheim S., 1982; Chelkowski J., Golinski P., 1982; Schuh M. et al., 1982].

Исследованиями, проведенными в Дании, впервые была доказана возможность сохранения остаточных количеств охратоксина А в почках, печени, мышцах и жировой ткани свиней и домашней птицы. По данным инспекционной службы контроля за качеством мяса, в Дании частота нефропатии свиней составляла 10—20 случаев на 10 000 убойных туш [Krogh P., 1978; Carlton W., Krogh P., 1979]. Анализ отобранных на различных бойнях почек свиней с нефропатией показал, что 35% из них содержали охратоксин А в концентрации 2—68 мкг/кг. В Швеции у 25% свиней с нефропатией в почках был обнаружен охратоксин А в концентрации 2—104 мкг/кг [Carlton W., Krogh P., 1979]. Этот токсин в количестве до 29 мкг/кг был найден в мышечной ткани кур, отобранных на бойне [Elling F. et al., 1975].

Таблица 17. Частота и уровень загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов охратоксином А в некоторых странах*

Продукт	Страна, год исследования	Число изученных образцов	Количество образцов, содержащих токсин, %	Уровень загрязнения, мкг/кг
Кукуруза	США	293	1	83—166
	Франция			
	1973	463	2,6	15—200
	1974	461	1,3	20—200
	Югославия			
	1972—1976	542	8,3	6—140
	1975—1976	191	26	45—5120
	1976—1977	111	16,1	до 2100
	1978—1979	116	56	10—68 900
	Индия	50	12	до 187
Пшеница				
красная озимая	США	291	1	5—115
красная яровая		286	2,8	5—115
зерно	Югославия	130	8,5	14—135
пшеничный хлеб		32	18,8	—
мука	Великобритания	7	28,5	490—2900
хлеб		50	2	До 210
хлебо-булочные изделия		8	3	До 80
зерно	ГДР	49	2	—
Ячмень	Дания	50	6	9—189
	США	182	12,6	10—29
	Чехословакия	48	2,1	До 3800
	Югославия	64	12,5	14—27
Рис	Япония	2	100	230—430
Сорго	Нигерия	49	16	20—40
Фасоль	Швеция	71	8,5	10—442
Горох	Швеция	72	2,8	До 10
	Югославия	27	3,7	До 10
Кофе бобы	США	267	7,1	20—360

* По данным P. Krogh, S. Nesheim (1982); R. Cooper и соавт. (1982); S. Pepeljnjak, I. Balzer (1982); J. Elegbede и соавт. (1982).

В Югославии в период 1978—1980 гг. анализировали 206 образцов ветчины, бекона и колбас, отобранных в личных хозяйствах. Охратоксин А был обнаружен в 29% образцов ветчины (в количестве 40—70 мкг/кг), в 20% образцов бекона (37—200 мкг/кг) и 12—13% образцов колбас (10—920 мкг/г) [Pepeljnjak S., Blaževic N., 1982]. В незначительных количествах его выявили в мясных продуктах и сырах в Великобритании [Cooper R. et al., 1982]. L. Bueno и соавт. (1980) обнаружили охратоксин А в 2 образцах копченой свинины на Кубе в концентрации 150 и 250 мкг/кг.

В экспериментальных условиях охратоксин А экскретировался с молоком при однократном его введении коровам внутрь в дозе 1,66 мг/кг [Carlton W., Kroght P., 1979]. При содержании кур-несушек породы Плимутрок в течение 7 дней на рационе, включающем охратоксин А в количестве 10 мг/кг, токсин выявляли во всех тканях и в яйцах, хотя клинические признаки интоксикации у кур не были выражены [Juszkiewicz T. et al., 1982]. Постоянный уровень охратоксина А наблюдался в печени, почках, мышечной и жировой ткани свиней, получавших в течение 2 лет охратоксин в дозе 1 мг на 1 кг корма [Krogh P. et al., 1979].

С практической точки зрения весьма важно, что охратоксины являются стабильными соединениями. В условиях длительного прогревания загрязненной охратоксином А пшеницы (100—300 °C) его содержание незначительно (на 32%) снижалось лишь при температуре выше 250 °C [Томова С., 1977]. В аналогичных условиях в пшеничной муке, искусственно загрязненной охратоксином А, концентрация токсина уменьшалась в 4 раза. Кипячение пива, искусственно загрязненного охратоксином А в течение 20 мин, не влияло на содержание в нем токсина. В процессе автоклавирования в течение 0,5—3 ч количество добавленного к зерновым продуктам охратоксина А уменьшалось до 12,5—17% исходного уровня [Trenk H. et al., 1971; Madsen A. et al., 1983]. Некоторое спонтанное снижение уровня загрязнения зерновых продуктов охратоксином А наблюдали при их длительном хранении [Trenk H. et al., 1971]. Так, в овсяной муке при хранении в течение 12 нед при 28 °C выявляли 36—47% добавленного количества охратоксина А. В кормовом ячмене концентрация уменьшалась с 4000 до 1500 мкг/кг при хранении зерна в течение 2 лет [Carlton W., Krogh P., 1979].

В процессе изготовления пива из загрязненного охратоксином А ячменя значительная часть токсина подвергается деградации. По данным разных авторов, в конечном продукте выявляется от 25 до 2—7% количества охратоксина А, содержавшегося в ячмене [Krogh P. et al., 1974; Chu F. et al., 1975]. Степень деградации была значительно выше при низких исходных уровнях охратоксина А (до 1000 мкг/кг), чем при высоких (10 000 мкг/кг) [Nip W. et al., 1975].

В последние годы интенсивно изучается возможность детоксикации загрязненного охратоксинами зерна с помощью обработки его аммиаком или NaOH [Chelkowaki J. et al., 1981, 1982; Madsen A. et al., 1983]. Показано, в частности, что в условиях прогревания ячменя до 100—110 °C в течение 3—4 мин и после его обработки 0,5% раствором NaOH в течение часа, содержание токсина снижалось более чем на 80%. При обработке зерна 5% раствором аммиака при 70 °C в течение 96 ч концентрация охратоксина А уменьшалась на 95%. Следует отметить, что при этом виде обработки, так же как и при автоклавировании (132 °C), содержание в ячмене лизина уменьшалось на 10—20%.

В опытах на свиньях и куриных эмбрионах, однако, показано, что в зерне, подвергнутом детоксикации, в определенной степени сохраняются токсические свойства, и применение его представляется рискованным.

Итак, охратоксины достаточно широко распространены и создают реальную опасность для здоровья человека. В то же время в литературе явно недостаточно сведений об особенностях токсического действия охратоксинов и об отдаленных последствиях. Мало данных о метаболизме и механизме их действия. Нельзя считать достаточно обоснованной гипотезу об этиологической роли охратоксинов в развитии балканской эндемической нефропатии. Важнейшими задачами на ближайшее будущее являются определение содержания охратоксина А непосредственно в рационах людей, проживающих в районах, эндемичных по нефропатии; широкое систематическое изучение загрязнения пищевых продуктов растительного и животного происхождения охратоксинами как в районах с высокой заболеваемостью эндемической нефропатией, так и в районах, где такое заболевание не регистрируется; изучение механизмов избирательного поражения охратоксинами почек.

Глава IV

Трихотеценовые микотоксины

В настоящее время известно более 40 трихотеценовых мико токсинов (ТТМТ) — вторичных метаболитов различных представителей микроскопических грибов рода Fusarium. Продуцентами этих токсинов являются также некоторые виды Myrothecium, Trichoderma, Trichothecium, Cephalosporium и Stachybotrys. Хотя этиологическая роль некоторых грибов-продуцентов, таких как Fusarium и Stachybotrys, в развитии алиментарных токсикозов у человека и сельскохозяйственных животных была установлена давно [Воронин М. С., 1890; Дроботько В. Г., 1946; Саркисов А. Х., 1954; Билай В. И., 1977], систематическое изучение значения ТТМТ в возникновении этих токсикозов началось сравнительно недавно — после выделения Т-2-токсина из кукурузы, пораженной F. tricinctum (F. sporotrichiella var. tricinctum Bil.) и явившейся причиной гибели крупного рогатого скота [Bamburg J. et al., 1968; Hsu I. et al., 1972]. Следует, однако, отметить, что некоторые соединения трихотеценовой группы (веррукарины, роридины, триходермин и диацетоксискирпенол) были обнаружены задолго до этого в процессе изучения биологической активности веществ, продуцируемых плесневыми грибами. Первым из ТТМТ в чистом виде был выделен трихотецин из культуры Trichothecium roseum [Freeman G., Morrison R., 1948].

СТРУКТУРА, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРОДУЦЕНТЫ ТРИХОТЕЦЕНОВЫХ МИКОТОКСИНОВ

По своей химической структуре ТТМТ относятся к сесквитерпенам. Они содержат основное ядро из трех колец, названное трихотеканом [Goldtfrendsen W. et al., 1967]. Так как все ТТМТ содержат эпоксидное кольцо при С-12; 13 и двойную связь при С-9; 10, вся группа получила название 12,13-эпокситрихотец-9-ены. В зависимости от структуры трихотеценового ядра эти микотоксины подразделяются на 4 группы: тип А составляют соединения, содержащие при С-8 в качестве радикала либо Н, либо ОН; тип В — соединения, содержащие у С-8 карбоксильную группу; тип С представлен макроциклическими ТТМТ, тип D включает соединения, содержащие второй эпоксид при С-7; 8 [Bamburg J., 1976; Takitani S., Asabe Y., 1983]. Ниже представлена структура основных трихотеценовых микотоксинов (табл. 18).

Следует подчеркнуть, что из 45 выделенных и изученных к настоящему времени ТТМТ в качестве природных загрязнителей пищевых продуктов и кормов обнаружены только четыре: Т-2-токсин, ниваленол, дезоксиниваленол и диацетоксискирпенол.

Таблица 18. Структура трихотеценовых микотоксинов различных типов

Микотоксин	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Тип А					
Триходермол	H	OH	H	H	H
Триходермин	H	$OCOCH_3$	H	H	H
Веррукарол	H	OH	OH	H	H
Скирпентриол	OH	OH	OH	H	H
Моноацетоксискирпенол	OH	OH	$OCOCH_3$	H	H
Диацетоксискирпенол	OH	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	H	H
7,8-Дигидроксидиацетоксискирпенол	OH	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	OH	OH
Т-2-Тетраол	OH	OH	OH	H	OH
Неосоланиол	OH	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	H	OH
НТ-2-Токсин	OH	OH	$OCOCH_3$	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
Т-2-Токсин	OH	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
Т-2-Триол	OH	OH	OH	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
Тип В					
Трихотеколон	H	OH	H	H	
Трихотецин	H	$OCOCH{=}CHCH_3$	H	H	
Ниваленол	OH	OH	OH	OH	
Дезоксиниваленол	OH	H	OH	OH	
Фузаренон-Х	OH	$OCOCH_3$	OH	OH	
Диацетилниваленол	OH	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	OH	
Тетраацетилниваленол	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	$OCOCH_3$	

Продолжение

Микотоксин	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5

Веррукарин A Веррукарин B Веррукарин J

Тип C

Роридин A Роридин D

Тип D

Кротокол		OH			
Кротоцин		$OCOCH{=}CHCH_3$			

ТТМТ представляют собой бесцветные, кристаллические, химически стабильные соединения, плохо растворимые в воде. Микотоксины типа A растворимы в умеренно полярных растворителях (ацетон, этилацетат, хлороформ); типа B — в более полярных растворителях (этанол, метанол). В целом ТТМТ типа A более токсичны, чем типа B, а соединения, относящиеся к типу D, несмотря на наличие двух эпоксидных групп, — малотоксичны. Восстановление двойной связи при С-9; 10 приводит лишь к незначительному уменьшению токсичности, в то время как размыкание эпоксидного кольца сопровождается потерей биологической активности [Bamburg J., Strong F., 1971; Bamburg J., 1976; Ishii K., 1983]. Эпоксид при С-12; 13 очень стабилен и для

размыкания этого кольца необходимы жесткие воздействия, например концентрированными кислотами, H_2O_2, длительным кипячением в воде. Некоторые физико-химические свойства основных ТТМТ приведены в работах J. Rodries, R. Eppley (1974), C. Mirocha и соавт. (1980) и суммированы в табл. 19.

Таблица 19. Основные физико-химические свойства некоторых трихотеценовых микотоксинов типа А и В *

Микотоксин	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Точка плавления, С	Окраска при обработке H_2SO_4	Окраска при обработке п-анисовым альдегидом	Значение R_f
Т-2-токсин	$C_{24}H_{34}O_9$	466	150—151	Серая (Ф)	Пурпурная (Ф)	0,4**
НТ-2-токсин	$C_{22}H_{32}O_8$	424		То же	То же	0,09**
Неосоланиол	$C_{19}H_{26}O_8$	382	150—151	» »	» »	0,22**
Т-2-тетраол	$C_{15}H_{22}O_6$	298		» »	» »	0,32***
Диацетоксискирпенол	$C_{19}H_{26}O_7$	366	162—164	Пурпурная (Ф)	» »	0,36**
Моноацетоксискирпенол	$C_{17}H_{24}O_6$	324	173—173,5	То же	» »	0,21**
Скирпентриол	$C_{15}H_{22}O_5$	282	189—191	Коричневая (Ф)	Пурпурная	0,35***
Ниваленол	$C_{15}H_{20}O_7$	312	222—223	Коричневая **	То же	0,42***
Фузаренон-Х	$C_{17}H_{22}O_8$	354	91—92	То же	Канареечно-желтая	0,77***
Диацетилниваленол	$C_{19}H_{24}O_9$	396	135—136	Коричневая **	Пурпурная	0,9***
Дезоксиниваленол	$C_{15}H_{20}O_6$	296	131—135	Желтая	Канареечно-желтая	0,62***
3-Ацетилдезоксиниваленол	$C_{17}H_{22}O_7$	338	185—186	То же	То же	0,8***

* По данным Mirocha C. et al., 1980; Ф — флюоресценция в ультрафиолете (360 нм).
** Тонкослойная хроматография в системе хлороформ · метанол (98:2).
*** Тонкослойная хроматография в системе хлороформ метанол (5:1).

Эти токсины, за исключением лишь некоторых макроциклических, не обладают флюоресценцией и для их обнаружения после разделения методом тонкослойной хроматографии применяют различные способы обработки с целью получения окрашенных или флюоресцирующих производных [Takitani S., Asabe Y., 1983]. При обработке хроматограммы 10—50% спиртовым раствором H_2SO_4 с последующим нагреванием при 100—150 °С ТТМТ типа А приобретают серую или пурпурную окраску, а типа В — коричневую. Микотоксины типа А после обработки кислотой флюоресцируют голубым цветом в ультрафиолете (360 нм). Голубая флюоресценция у токсинов типа В появляется после обработки хроматографических пластин 50% раствором хлорида алюминия и нагревания при 130 °С. Эффективным хромогенным реагентом является п-анисовый альдегид, обработка которым хроматогра-

фических пластин с последующим нагреванием при 100—130°С приводит к образованию пурпурно-красных производных токсинов типа А и желтых — типа В. После такой обработки ТТМТ типа А приобретают способность флюоресцировать голубым цветом в длинноволновой области ультрафиолета. S. Takitani и соавт. (1979) рекомендуют использовать в качестве хромогенного реагента для выявления всех типов ТТМТ, имеющих эпоксидную группу при С-12; 13, 4-(п-нитробензил)-пиридин. При обработке этим реагентом токсины приобретают сине-фиолетовую окраску.

Продуценты. Микроскопические грибы, продуцирующие ТТМТ, широко распространены в природе и представлены как строго сапрофитными (Stachybotrys alternans), так и фитопатогенными (Trichoderma roseum, Myrothecium verrucaria, M. roridum) видами [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Ueno Y., 1977]. Различные виды Fusarium, к которым относится большинство продуцентов этих токсинов, отличаются выраженной способностью приспосабливаться к изменяющимся условиям существования, что обусловливает возможность перехода их от сапрофитной стадии роста к паразитированию на тканях высших растений, ослабленных вследствие воздействия каких-либо неблагоприятных факторов окружающей среды [Билай В. И., 1977]. Грибы рода Fusarium являются основными возбудителями так называемых гнилей корней, стеблей, листьев, семян, плодов, клубней и сеянцев растений. Они вызывают также задержку роста, бесплодие и некоторые виды пигментации у различных растений.

Продуцентами ТТМТ типа А и В являются многие виды Fusarium. Основные продуценты токсинов типа А, среди которых высокими токсичностью и частотой обнаружения выделяются Т-2-токсин, были выделены из кормов и продовольственного сырья, явившихся причиной алиментарных токсикозов у сельскохозяйственных животных и людей. К ним относятся F. tricinctum, F. poae и F. solani. Продуцентами диацетоксискирпенола, второго из микотоксинов типа А, обнаруживаемого в качестве природного загрязнителя пищевых продуктов, чаще служат F. equiseti, F. culmorum, F. sulphureum и F. semitectum [1].

Необходимо отметить значительную сложность трактовки данных о токсических свойствах грибов рода Fusarium, полученных разными авторами в различных странах, из-за отсутствия единой систематики этого рода грибов. Согласно последней классификации рода Fusarium, предложенной В. И. Билай (1977), основные продуценты ТТМТ типа А относятся к виду F. sporotrichiella, а F. tricinctum и F. poae являются его разновидностями, т. е. F. sporotrichiella var. tricinctum и F. sporotrichiella var. poae.

В ряде исследований, проведенных в нашей стране, было показано, что число токсичных штаммов среди представителей секции Sporotrichiella значительно выше, чем среди других представителей рода Fusarium [Фадеева Л. М., 1969; Квашнина Е. С.,

[1] Названия грибов приводятся так, как они даны в соответствующем литературном источнике.

1972; Билай В. И., 1977; Билай В. И. и др., 1983]. Так, по данным Е. С. Квашниной (1972), при анализе большого числа изолятов, полученных из более чем 1000 образцов кормов в различных регионах СССР, 98% выделенных штаммов F. sporotrichiella оказались токсичными. По данным Л. М. Фадеевой (1969), среди представителей секции Sporotrichiella токсичными были 91% выделенных штаммов; среди видов секции Discolor — 58%; Elegans — 33% и Marticlla — только 25%. В. И. Билай и соавт. (1983) выявили, что 63,2% изученных изолятов F. sporotrichiella, выделенных в разные годы в различных регионах СССР, а также в Великобритании и Канаде, являются продуцентами Т-2- и НТ-2-токсинов. При этом было обнаружено, что представители F. sporotrichiella var. poae синтезируют Т-2- и НТ-2-токсины в значительно больших количествах, чем представители F. sporotrichiella var. tricinctum.

Микотоксины типа В — ниваленол, дезоксиниваленол (вомитоксин), фузаренон-Х, — как в лабораторных, так и в природных условиях продуцируются главным образом различными штаммами F. nivale, F. graminearum и F. culmorum [Ueno Y. et al., 1973; Yoshizawa T. et al., 1979; Ichinoe M., Kurata H., 1983]. Имеются сообщения о выделении дезоксиниваленол-продуцирующих штаммов F. graminearum в некоторых странах Европы, Африки и Азии. Из 43 штаммов F. graminearum, выделенных из ячменя в юго-западной части Японии, 21 изолят синтезировал дезоксиниваленол и 3-ацетилдезоксиниваленол, а 20 — ниваленол и фузаренон-Х [Yoshizawa T. et al., 1979]. Исследования, проведенные в Японии, показали, что в природных условиях ниваленол выявляется часто вместе с дезоксиниваленолом в ячмене и пшенице, пораженных F. graminearum [Yoshizawa T., 1983]. Близкие данные приводят M. Jemmali и соавт. (1978) для Франции.

Наряду с представителями рода Fusarium способность синтезировать ТТМТ обнаружена у Trichothecium roseum (трихотецин и трихотеколон), Trichoderma viride, T. polysporum, T. hamatum и T. harzianum (триходермин и триходермол). Кротоцин и кротокол — микотоксины типа D — являются вторичными метаболитами Cephalosporium crotocinigenum.

Следует подчеркнуть, что один и тот же вид гриба-продуцента может синтезировать несколько ТТМТ, иногда относящихся к разным типам (табл. 20). Оказалось, что многие токсигенные штаммы F. sporotrichiella синтезируют наряду с Т-2- и НТ-2-токсинами неосоланиол, диацетоксискирпенол и др. [Билай В. И. и др., 1983; Соболев В. С. и др., 1984]. Недавно нами был впервые выделен из культуры F. sporotrichiella, выращенной на пшене, новый высокотоксичный метаболит трихотеценовой природы — Т-2-триол, структура которого была идентифицирована как 8-(3-метилбутирилокси)-12,13,-эпокситрихотец-9-ен-3,4,15-триол (см. табл. 18) [Тутельян В. А. и др., 1984а, б].

Кратко остановимся на условиях, способствующих токсинообразованию микроскопических грибов рода Fusarium. В естествен-

Таблица 20. Токсигенный потенциал некоторых видов Fusarium [по Ichinoe M., Kurata H., 1983]

Вид Fusarium	ТТМТ
F. graminearum	Дезоксиниваленол, 3-ацетилдезоксиниваленол, ниваленол, фузаренон-Х
F culmorum	Дезоксиниваленол. 3-ацетилдезоксиниваленол
F equiseti.	Диацетоксискирпенол, неосоланиол, ниваленол,
F. semitectum	фузаренон-Х, диацетилниваленол
F. acuminatum	Т-2-Токсин, НТ-2-токсин, диацетоксискирпенол, неосоланиол
F. nivale	Ниваленол, фузаренон-Х, диацетилниваленол
F. sporotrichioides	Т-2-Токсин, НТ-2-токсин, диацетоксискирпенол, неосоланиол
F. sulphureum	Т-2-Токсин, диацетоксискирпенол, 3-ацетилдиацетоксискирпенол
F poae	Диацетоксискирпенол, неосоланиол
F. oxysporum	Т-2-Токсин
F. solani var. coerulum	Диацетоксискирпенол
F. moniliforme	Т-2-Токсин, диацетоксискирпенол

Название видов дано по систематике С. Booth.

ных условиях, как показали данные по изучению токсичности перезимовавшего под снегом зерна, наиболее интенсивное накопление токсинов наблюдается при повышенной влажности и пониженной температуре [Билай В. И., 1977]. В лабораторных условиях при культивировании токсигенных штаммов Fusarium на стерильном зерне максимальное образование Т-2-токсина наблюдали через 4—6 нед при 8—12 °С [Квашнина Е. С., 1972; Костюнина Н. А., 1977; Соболев В. С. и др., 1984; Ueno Y. et al., 1975; Ishii K., 1983]. Характерной особенностью F. sporotrichiella является усиление синтеза токсинов как на природных субстратах, так и синтетических средах при попеременном изменении температуры инкубации в довольно широких пределах [Билай В. И., 1977]. Например, предварительное воздействие на культуры F. sporotrichiella повышенными температурами (до 50 °С) или замораживание приводило к усилению токсинообразования в 2—4 раза. При культивировании F. sporotrichiella на пшене первые 7 дней при 20—22 °С, а последующие 14 дней — при 3—5 °С количество продуцируемого Т-2-токсина достигало 3 г на 1 кг зерна, что значительно превышало уровень токсинообразования на твердом субстрате при иных режимах культивирования [Соболев В. С. и др., 1984]. Близкие результаты были получены Н. А. Костюниной (1977): максимальный синтез Т-2-токсина наблюдался при 8—14 °С, при 24 °С и выше этот процесс значительно тормозился. С увеличением температуры культивирования синтез Т-2-токсина изолятами Fusarium снижается, а НТ-2-токсина — значительно усиливается [Ueno Y. et al., 1970; Ueno Y., 1977].

Максимальное образование диацетоксискирпенола 4-недельной культурой F. tricinctum на среде Грегори наблюдали при 8 °С

[Smalley E., Strong F., 1974]. Температурный оптимум продукции фузаренона-Х и дезоксиниваленола (вомитоксина) значительно выше: 25—27 °С в культуре F. nivale. Интересно, что попеременное культивирование F. nivale при оптимальной и низкой температурах не стимулировало синтез токсина. Синтез дезоксиниваленола F. graminearum при культивировании на твердом субстрате достигал максимума на 40-й день при 30 °С, а F. roseum — на 41-й день при 26 °С. Снижение температуры инкубации до 19,5 °С почти полностью подавляло этот процесс [Ueno Y. et al., 1970; Vesonder R. et al., 1982; Greenhalgh R. et al., 1983].

Y. Ueno (1970, 1977) отметил интересный факт: при культивировании грибов на твердых субстратах и при более высокой температуре возрастает их деацетилирующая активность, в связи с чем при длительном культивировании T. tricinctum на зерновых субстратах при 24 °С уменьшается количество образующегося Т-2-токсина и возрастает количество его деацетильного производного — НТ-2-токсина. При культивировании F. roseum на жидкой среде синтезируется диацетоксискирпенол, а на твердом субстрате (рис) — моноацетоксискирпенол и скирпентриол. F. nivale на жидкой среде продуцирует преимущественно диацетилниваленол, а на рисе — ниваленол [Ishii K., 1983].

На токсинообразование влияет химический состав среды культивирования. В культуре F. sporotrichiella максимальный синтез токсинов наблюдали при использовании в качестве источника углерода целлобиозы, галактозы, мальтозы, манита и крахмала, а в качестве источника азота — мочевины, углекислого ацетата и цитрата аммония, а также некоторых аминокислот (аланина, глицина, аспарагина, валина, тирозина и глутаминовой кислоты) [Брюхина И. П., 1969]. Некоторые минеральные вещества существенно влияют на синтез токсинов F. sporotrichiella: избыток серы и железа стимулирует его, недостаточность в среде серы — подавляет, цинк, ванадий и магний стимулируют, а кобальт полностью подавляет рост мицелия [Пендельчук В. Т., Мисюренко И. П., 1974; Осадчая Н. Д., Михайлова Л. Ф., 1977].

В значительно меньшей степени изучен процесс синтеза токсинов продуцентами, не относящимися к роду Fusarium. Продуценты макроциклических ТТМТ типа С относятся к видам Stachybotrys (роридины, веррукарины и сатратоксины), Myrothecium (роридины А, D, Е и Н, веррукарины А, В, J, К) и Verticimonosporium diffractum (вертиспорин).

Первые исследования химической природы токсинов S. alternans проведены А. Я. Фиалковым и С. Б. Серебряным (1949), В. Н. Пашкевичем (1950) и Р. Юськивым (1968) при изучении стахиботриотоксикозов у лошадей, крупного рогатого скота и других сельскохозяйственных животных. Позднее была установлена структура токсических метаболитов S. atra, обозначенных как сатратоксины С, D, F, G и Н [Eppley R., Bailey W., 1973]. Сатратоксины С и D оказались идентичными по структуре ранее выделенным из культуры Myrothecium verrucaria веррукарину J

и роридину Е. По данным различных авторов, токсигенные штаммы составляют 80—100% всех выделенных из токсичных кормов штаммов S. atra [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970]. Токсинообразующую способность S. alternans (S. atra) при культивировании на природных и полусинтетических субстратах изучали А. Х. Саркисов, З. В. Трифонова и Р. Юськив. Они наблюдали, что при поверхностном культивировании максимальный синтез токсинов происходит на 7—15-й день и связан с обильным спорообразованием. При глубинном культивировании значительные количества токсинов выявлялись на 2—5-й день инкубации. Синтез токсинов был наибольшим при использовании в качестве источника азота глицина, аланина, триптофана, лейцина и аспарагина (в убывающем порядке), а в качестве источника углерода — арабинозы, галактозы, крахмала, глюкозы и сахарозы. Витамины B_1, С и никотиновая кислота усиливали токсинообразование. Температурный оптимум роста S. alternans составляет 20—25 °С, а температурные пределы роста — 2—39 °С [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970].

Из известных видов Myrothecium способность синтезировать ТТМТ обнаружена у двух видов — M. verrucaria и M. roridum. Согласно данным M. Tullock (1972), название M. roridum является синонимом Dendrodochium toxicum Pidop. et Bil. — гриба, впервые выделенного и описанного Н. М. Пидопличко и В. И. Билай (1947) в качестве этиологического фактора алиментарного токсикоза у лошадей, наблюдавшегося в 1937 г. на юге Украины и названного ими дендродохиотоксикозом. Идентичность указанных видов грибов позволила отнести описанные ранее дендродохиотоксикозы к микотоксикозам трихотеценовой природы [Smaley E., Strong F., 1974; Ueno Y., 1977]. В связи с этим несомненный интерес представляет сообщение К. П. Панозишвили и А. В. Боровкова (1977) об обнаружении в культурах Dendrodochium toxicum двух активных соединений, которые были ими идентифицированы как роридин А и веррукарин А, описанные ранее как метаболиты Myrothecium. Выделенные соединения отличались сильными цитотоксическими свойствами и выраженным фитотоксическим действием по отношению к высшим растениям.

Однако несмотря на обилие данных о токсинообразовании микроскопических грибов рода Fusarium, нельзя считать окончательно установленными пути регуляции синтеза ТТМТ и факторы, влияющие на рост мицелия и продукцию токсинов. Что касается остальных продуцентов ТТМТ, особенно макроциклических, то исследования в этом направлении находятся в начальной стадии.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ. ТРИХОТЕЦЕНОВЫЕ МИКОТОКСИНЫ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

В изучении биологического действия ТТМТ можно выделить два этапа: до момента установления их химической структуры — этап накопления данных о токсическом действии микроскопиче-

ских грибов, впоследствии идентифицированных как продуценты ТТМТ, и этап, характеризующийся систематическим исследованием острого токсического действия и отдаленных эффектов отдельных представителей этой обширной группы микотоксинов.

Токсическое действие микроскопических грибов-продуцентов. Алиментарные токсикозы, обусловленные поражением пищевых продуктов и кормов микроскопическими грибами, продуцирующими ТТМТ, относятся к наиболее распространенным и рано описанным микотоксикозам человека и сельскохозяйственных животных [Воронин Н. С., 1890; Пальчевский Н. А., 1891; Саркисов А. Х., 1954; Билай В. И., 1977] (табл. 21).

Токсикоз от «пьяного хлеба» — заболевание человека и животных, связанное с употреблением зерновых продуктов, пораженных грибами Fusarium graminearum (F. roseum). Впервые это заболевание наблюдали на Дальнем Востоке в 1882 г. Имеются сообщения о случаях заболевания в отдельные годы в Италии, ФРГ, Швеции, Финляндии и Франции. К «пьяному хлебу» чувствительны многие животные: лошади, крупный рогатый скот, свиньи, собаки. В 30-е годы в США и некоторых странах Европы отмечались массовые заболевания свиней, вызванные потреблением ячменя, зараженного F. graminearum.

У людей клиническая картина заболевания развивается вскоре после приема в пищу продуктов (главным образом хлеба), приготовленных из пораженного («пьяного») зерна: через 30—60 мин появляются рвота, боли в области живота, диарея, возникают чувство слабости, тяжести в конечностях, скованность походки. Через день наступает состояние, похожее на состояние после тяжелого опьянения: сильные головные боли, головокружение. При длительном потреблении «пьяного хлеба» у людей наблюдаются истощение, потеря зрения, явления нарушения психики. У животных характерными симптомами отравления являются отказ от корма (особенно у свиней и лошадей), повышенная возбудимость, сменяющаяся слабостью, угнетением рефлексов. У свиней и собак может наблюдаться рвота [Воронин Н. С., 1890; Пальчевский Н. А., 1891; Саркисов А. Х., 1954].

Акабаби-токсикоз, или болезнь, вызванная красной плесенью, периодически, начиная с 1890 г., отмечается у людей и сельскохозяйственных животных в Японии [Ueno Y. et al., 1970; Ueno Y., 1977; Yoshizawa T., 1983]. Характерная особенность этого микотоксикоза — его появление в годы, отличающиеся обильными дождями в период сбора урожая зерновых. Доказано, что токсические свойства зерна связаны с его поражением грибами F. nivale — продуцентом фузаренона-Х, ниваленола и диацетилниваленола, и F. graminearum — продуцентом дезоксиниваленола и 3-ацетилниваленола.

У людей заболевание протекает по типу пищевого отравления: через 1—2 ч после приема загрязненной пищи появляются рвота, боли в животе, реже — диарея, головная боль, озноб. Среди животных чувствительными к акабаби-токсикозу оказались лошади,

Таблица 21. Основные сведения о микотоксикозах, вызванных продуцентами трихотеценовых микотоксинов

Заболевания	Географический регион или страны	Чувствительные виды	Природные субстраты	Продуцент	Установленные или предполагаемые микотоксины
Токсикоз от «пьяного хлеба»	Дальний Восток, Швеция, Финляндия, ФРГ, Италия, Франция, США	Человек, лошадь, крупный рогатый скот, свиньи, собака	Пшеница, рожь, ячмень, овес, кукуруза	F. graminearum (F. roseum)	Неизвестны
Акабаби-токсикоз	Япония, Южная Корея	Человек, лошадь, крупный рогатый скот, коза, свиньи, овца, домашняя птица	Пшеница, ячмень, овес, рис, кукуруза	F. nivale, F. graminearum	Ниваленол, деоксиниваленол, диацетилниваленол, фузаренон-X, 3-ацетилдезоксиниваленол
Отравление шелухой бобов	Япония	Лошадь	Шелуха различных бобов, рисовая солома	F. solani	Неосоланиол, T-2-токсин
Алиментарная токсическая алейкия, споротрихиеллотоксикоз	СССР	Человек, лошадь, крупный рогатый скот, овца, свинья	Зерно хлебных злаков, перезимовавшее под снегом	F. sporotrichiella	Спорофузарин, T-2-токсин, деоксиниваленол, диацетоксискирпенол, неосоланиол
Токсикоз от заплесневелой кукурузы	США	Крупный рогатый скот, свинья	Кукуруза	F. tricinctum, F. graminearum	Диацетоксискирпенол, T-2-токсин, деоксиниваленол
Стахиботриотоксикоз	СССР, Венгрия, Румыния, Болгария, Югославия, Финляндия, Индия, ЮАР	Лошадь, крупный рогатый скот, овца свинья	Солома, сено	Stachybotrys alternans (S. atra)	Стахиботриотоксины, сатратоксины

Дендродохиотоксикоз	СССР	Лошадь	Солома, сено	Dendrodochium toxicum	Дендродохины, веррукарины, роридины
Уровская (Кашина — Бека) болезнь	Дальний Восток, Южная Корея, Китай, Швеция, Нидерланды	Человек	Зерно хлебных злаков	F. sporotrichiella	Неизвестны

крупный рогатый скот, свиньи, козы, цыплята (отказ от корма, рвота, диарея). Нередко заболевание заканчивалось гибелью животных. При аутопсии погибших животных отмечали полнокровие и кровоизлияния во внутренних органах (легких, кишечнике, головном мозге) и деструктивные изменения костного мозга. Анализ случаев акабаби-токсикоза при вспышке этого заболевания в южных префектурах Японии в 1963 г. показал, что смертность составляла: среди заболевших лошадей — 5%, крупного рогатого скота — 13,3%, свиней, овец и коз — 20—21%, цыплят — 36,8%. В северных районах Японии, где акабаби-токсикоз встречается редко, в отдельные годы отмечали случаи токсикоза у лошадей, связанные с включением в корм шелухи различных видов бобов и рисовой соломы, пораженных грибами рода Fusarium. При выяснении этиологии этого заболевания лошадей был выделен F. solani, продуцирующий неосоланиол и Т-2-токсин [Ueno Y. et al., 1972].

Алиментарная токсическая алейкия (АТА) — заболевание, наблюдавшееся в отдельные годы (1932—1934, 1944—1945, а также 1952, 1953 и 1955 гг.) на территории СССР и связанное с употреблением в пищу продуктов переработки перезимовавшего под снегом зерна (хлеб, лепешки, каши и т. п.). Заболевание является типичным микотоксикозом — характеризуется определенной очаговостью, сезонностью (весна), неравномерностью вспышек в разные годы, бесспорным доказательством связи с употреблением зерна, пораженного микроскопическими грибами [Ефремов В. В., 1948; Саркисов А. Х., 1948, 1954]. Впервые случаи этого заболевания были отмечены в 1932 г. в Казахстане, затем в 1933—1934 гг. в некоторых районах Сибири. Массовые вспышки АТА имели место в некоторых районах СССР (Оренбургская область, северный Казахстан) в конце Великой Отечественной войны (1944—1945 гг.). Позднее заболеваемость АТА резко снизилась, хотя единичные случаи еще наблюдали в сельской местности в 1952, 1953 и 1955 гг. [Рубинштейн Ю. И., 1960].

Выделив в качестве основного симптома лейкопению, И. В. Давыдовский еще в 1935 г. предложил для обозначения этого забо-

левания термин «алиментарная алейкия», однако первоначально оно было названо «септической ангиной» — по одному из его симптомов (гиперемия и отечность миндалин). А. Х. Саркисов (1948, 1954), Ю. Н. Рубинштейн (1948, 1960), В. В. Ефремов (1948), В. И. Билай (1947), П. Г. Сергиев (1945, 1946) и другие советские ученые изучили этиологию, патогенез и клинику заболевания, разработали меры его профилактики. Было установлено, что «септическая ангина» представляет собой алиментарное токсическое заболевание, вызываемое употреблением в пищу продуктов из зерновых культур, перезимовавших в поле под снегом и зараженных микроскопическими грибами F. sporotrichiella [Саркисов А. Х., Квашнина Е. С., 1948]. В симптомокомплексе отравления (стадия I) преобладали явления общего токсикоза (слабость, недомогание, потливость и др.), длящиеся обычно в течение нескольких дней после употребления в пищу токсичного зерна. Стадия II характеризовалась резкой лейкопенией; клинические симптомы при этом не были выражены. Так называемая «ангинозно-геморрагическая» стадия, стадия III, отличалась появлением ангины (катаральной, некротической или гангренозной), кровотечений, прогрессирующей лейкопении (число лейкоцитов иногда падало до 300—100 в 1 мкл и ниже). Тяжелые случаи заболевания на этой стадии заканчивались летально. Стадия IV — стадия восстановления (если прекращен прием токсичного зерна и начата терапия) или возможных осложнений вплоть до летального исхода [Ефремов В. В., 1948; Саркисов А. Х., 1954].

Как отмечалось, стадия II АТА характеризовалась развитием лейкопенического синдрома. При патологоанатомическом исследовании тканей больных, умерших на этой стадии заболевания, наиболее характерным было обнаружение резкого угнетения в костном мозге всех цитопластических процессов и нарушения дифференцировки клеточных элементов. На более поздней «ангинозно-геморрагической» стадии происходили опустошение костного мозга и почти полное прекращение пластических процессов в миелоидной, лимфоидной и ретикулоэндотелиальной тканях. Авторы подчеркивали, что наблюдавшиеся в этой стадии некротические изменения в различных органах являлись следствием угнетения функциональной активности кроветворных тканей.

Необходимо отметить, что выраженные признаки токсикоза наблюдались и у некоторых сельскохозяйственных животных, которые потребляли корма, зараженные F. sporotrichiella. Токсикоз проявлялся в виде острого поражения желудочно-кишечного тракта, дистрофии паренхиматозных органов, геморрагий и сопровождался лейкопенией. При этом чувствительными к токсическому действию F. sporotrichiella оказались лошади, свиньи, крупный рогатый скот, некоторые другие жвачные и домашняя птица [Саркисов А. Х., 1954].

Многочисленные исследования были посвящены изучению токсического действия зерна, зараженного F. sporotrichiella, на различных лабораторных животных. Явления выраженного токсикоза

развивались у всех изученных видов животных. Однако только у кошек и обезьян удалось воспроизвести симптомокомплекс, близкий АТА у людей. А. Х. Саркисов и соавт. (1945) впервые воспроизвели клиническую (геморрагический диатез и некрозы) и гематологическую (лейкопения, тромбоцитопения) картину АТА в эксперименте на кошках. Эти данные были вскоре подтверждены Ю. И. Рубинштейн и Л. С. Лясс (1948) в опытах на обезьянах. Длительное скармливание обезьянам проса, зараженного F. sporotrichiella, приводило к развитию АТА, совпадающей с картиной заболевания у людей по основным клиническим симптомам и полностью — по гематологическим и патологоанатомическим симптомам. С первых дней у животных появлялись рвота и диарея, позднее — язвы и гнойничковые поражения десен, петехии на коже лица, подкожные геморрагии. Начиная с 40-го дня выявляли лейкопению, агранулоцитоз, резкое уменьшение или полное отсутствие тромбоцитов, анемию. У погибших обезьян при аутопсии обнаруживали внутримышечные кровоизлияния, некрозы миндалин, печени, язвенные изменения кишечника, аплазию костного мозга. Анализ экспериментальных данных и клинических наблюдений позволил сделать вывод о том, что микотоксин, продуцируемый F. sporotrichiella, действует непосредственно на кроветворные органы, главным образом на костный мозг [Давыдовский И. В., Кестнер А. Г., 1935; Ефремов В. В., 1948; Рубинштейн Ю. И., 1948].

Были предприняты попытки выяснения химической природы токсинов, присутствующих в зараженном F. sporotrichiella зерне [Кретович В. Л. и др., 1946; Мишустин Е. Н. и др., 1946; Олифсон Л. Е., 1955]. Впервые чистый токсин выделил Л. Е. Олифсон (1957, 1965) из проса, зараженного токсигенными штаммами F. sporotrichiolla. Токсин был назван спорофузарином. В работах Л. Е. Олифсона и соавт. (1971, 1972) показано, что введение кристаллического препарата спорофузарина различным видам животных (мышам, кошкам, кроликам, лягушкам) приводит к быстрому развитию токсикоза, аналогичного токсикозу, возникающему при скармливании зерна, зараженного F. sporotrichiella, или при введении экстрактов этого зерна. При этом у кошек после введения спорофузарина в дозе, равной 0,1 LD_{100}, уже на 2-й день появлялись симптомы, характерные для АТА. Спорофузарин оказался высокотоксичным соединением — его LD_{50} для мышей при внутрибрюшинном введении составляет 22,1 мг/кг; увеличение дозы до 25—30 мг/кг приводило к гибели всех животных в течение первых 4—6 ч. Кролики погибали в течение 30—60 мин при внутривенном введении всего 5 мг/кг.

В то же время при изучении состава микотоксинов, продуцируемых различными штаммами F. sporotrichiella, выделенными из разных источников в разные годы (включая 1952 и 1953 гг., когда были зарегистрированы случаи АТА), установлено, что большинство штаммов продуцировало преимущественно только два микотоксина, Т-2- и НТ-2-токсины, и в незначительных ко-

личествах неосоланиол, ацетилнеосоланиол, диацетоксискирпенол [Билай В. И. и др., 1983; Тутельян В. А. и др., 1984б]. Иными словами, исследованные штаммы продуцировали только ТТМТ Среди токсинов не удалось найти соединения, аналогичные или близкие по структуре описанному Л. Е. Олифсоном спорофузарину, относящемуся к стеролам. Тем не менее нельзя полностью исключить возможность потери или изменения токсинопродуцирующих свойств изолятов F. sporotrichiella за такой значительный период времени, как 25—30 лет, который прошел со времени получения этих изолятов и первоначального изучения продуцируемых ими токсинов. В настоящее время накоплены достаточно убедительные доказательства в пользу того, что токсинообразующая способность, качественный и количественный состав микотоксинов, продуцируемых этим видом микроскопических грибов в значительной степени определяются состоянием экологической среды и сочетанием воздействующих факторов.

Споротрихиеллотоксикозы, обусловленные употреблением в качестве корма перезимовавшего под снегом зерна, пораженного F. sporotrichiella, встречались, как уже отмечалось, и у сельскохозяйственных животных. Многочисленными последующими исследованиями показано, что большинство домашних животных и птицы (особенно молодых и беременных) чувствительно к действию токсических метаболитов F. sporotrichiella. Картина отравления характеризуется развитием некрозов слизистой оболочки ротовой полости и изъязвлений, трещинами кожи губ, отсутствием аппетита, учащением пульса и дыхания, нарушением координации движений, иногда появляются судороги, парезы задних конечностей. При подострых формах токсикозов отмечают снижение привесов, нарушение функций желудочно-кишечного тракта, дисбактериозы, ослабление или отсутствие защитных рефлексов, развитие лейкопении, уменьшение иммунореактивности. У дойных коров снижается секреция молока, а у птиц — яйценоскость. У погибших животных обнаруживают геморрагические гастриты и колиты, кровоизлияния и некрозы паренхиматозных органов [Фадеева Л. М. и др., 1969; Курманов М. А., 1972; Лапенис Ю. Б., 1974; Тишкова Н. С., 1974; Долторпязов Н. Х., 1975; Рухляда В. В., 1982; Рухляда В. В. и др., 1982].

Аналогичную картину токсикоза наблюдали у лошадей, свиней и домашней птицы в Канаде при включении в их корм заплесневелого ячменя, содержащего Т-2-токсин [Puls R., Greenway J., 1976]. В Великобритании заплесневелый ячмень был причиной заболевания коров, характеризующегося геморрагиями, анемией, лейкоцитопенией, кожными изменениями [Dyson D., Reed J., 1977]. В ФРГ наблюдали случаи токсикоза у свиней, коров, лошадей в период 1977—1981 гг. При этом в компонентах корма (кукурузе, ячмене, овсе) были обнаружены Т-2-токсин, диацетоксискирпенол и ниваленол. Основные клинические симптомы заболевания: отказ от корма, а у свиней и рвота, лихорадка, одышка, нарушение функционирования сердечно-сосудистой сис-

темы [Gedek B., Bauer J., 1983]. По данным G. Cirilli (1983), в Италии случаи алиментарных токсикозов, связанные с поражением кормов F. tricinctum (F. sporotrichiella) наблюдали у свиней, крупного рогатого скота и домашней птицы. Основные симптомы нарушение функций желудочно-кишечного тракта, геморрагии в желудке, кишечнике и почках; у свиней — отказ от корма и рвота. В кормах у заболевших животных обнаруживали Т-2-токсин, диацетоксискирпенол и ниваленол.

Токсикозы, связанные с заплесневелой кукурузой, встречающиеся в центральной части США и часто заканчивающиеся гибелью сельскохозяйственных животных, также относятся к типичным фузариотоксикозам. Вспышки токсикоза с высокой летальностью отмечались в 1962, 1964, 1965, 1970 и 1972 гг. Основные симптомы заболевания: отказ от корма, потеря массы тела, кровь в кале, развитие геморрагического синдрома (кровоизлияния в желудке, кишечнике, сердце, легких, почках и других паренхиматозных органах) [Smalley E., Strong F., 1974; Vesonder R., 1983]. В одном из типичных случаев, имевшим место в штате Висконсин зимой 1970—1971 гг., за 5 мес в стаде дойных коров погибло 20% животных. R. Vesonder (1983) подчеркивает, что подобные токсикозы отмечались в США еще в 1916 г. у свиней при употреблении пораженной грибами Fusarium кукурузы.

При изучении причины токсикозов, связанных с заплесневелой кукурузой, был выделен штамм F. tricinctum, продуцирующий Т-2-токсин и сделан вывод о том, что именно этот микотоксин является этиологическим фактором токсикозов [Hsu I. et al., 1972]. Позднее, наряду с Т-2-токсином были обнаружены диацетоксискирпенол и дезоксиниваленол (или вомитоксин). Вомитоксин был единственным из ТТМТ, выявленных в образцах кукурузы и некоторых других кормов, исследованных в 1972, 1975, 1977, 1978 и 1979 гг. в различных штатах США в связи с токсикозами у сельскохозяйственных животных, основными симптомами которых были плохая поедаемость корма, снижение привесов, рвота и диарея, но без признаков геморрагий. При экспериментальных исследованиях при введении чистого Т-2-токсина внутрь ни у коров, ни у овец не удалось воспроизвести типичную картину токсикоза с геморрагическим синдромом [Weaver G. et al., 1978, 1980]. В то же время, если Т-2-токсин вводили внутримышечно или внутривенно, то в желудочно-кишечном тракте, мезентериальных лимфатических узлах и эпикарде обнаруживались кровоизлияния [Kosuri N. et al., 1970]. Сравнивая клинику природных фузариотоксикозов и экспериментальных Т-2- и диацетоксискирпенол-микотоксикозов, C. Mirocha (1980, 1983) предположил возможность существования неидентифицированного пока компонента фузариотоксинов, ответственного за развитие геморрагического синдрома.

Стахиботриотоксикоз — микотоксикоз, встречающийся у лошадей, крупного рогатого скота и других видов животных и вызываемый кормами, пораженными токсигенными штаммами Stachy-

botrys alternans (S. atra) [Дроботько В. Г., 1946; Саркисов А. Х., 1954, Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Rodrick J., Eppley R., 1974]. Первые случаи заболевания были описаны в 1931 г. у лошадей на Украине, но особенно широкое его распространение наблюдалось в 1937—1938 гг. Этиологическая роль S. alternans в заболевании лошадей была установлена В. Г. Дроботько с сотрудниками. Клиническая картина характеризовалась тяжелыми некротическими изменениями слизистой оболочки ротовой полости и губ, отеком, часто развитием ринитов и гиперсаливации. Позже присоединялись поражения желудочно-кишечного тракта, геморрагический диатез, тромбоцитопения и лейкопения. В тяжелых случаях отмечались ослабление сердечно-сосудистой деятельности, нарастание тромбоцитопении и лейкопении; резко снижалась свертываемость крови и животное погибало. Наиболее характерными патологоанатомическими изменениями при стахиботриотоксикозе были множественные кровоизлияния, некротические изъязвления глотки, миндалин, десен, желудка, кишечника, очаги некроза и кровоизлияния в печени, деструктивные изменения костного мозга. Стахиботриотоксикозы нередко встречаются у крупного рогатого скота, чаще характеризуются развитием отеков, чем некрозов; наблюдается быстрое и резкое снижение секреции молока.

Вспышки стахиботриотоксикоза у лошадей, крупного рогатого скота, свиней и реже у овец периодически (в 1929, 1947, 1968, 1973, 1975 и 1982 гг.) наблюдались в Венгрии, некоторых районах Югославии, Болгарии, Румынии, Финляндии, Индии [Bhat R., Tulpule P., 1983; Harrach B. et al., 1983; Hintikka E.-L., 1983; Pepeljnjak S., 1983; Szathmáry C., 1983]. Смертность животных при этом в отдельных случаях достигала 50%. Стахиботриотоксикоз, наблюдавшийся в 1977 г. в ЮАР у овец, был единственным случаем микотоксикоза, связанного с ТТМТ, в этом регионе [Kriek N., Marasas W., 1983]. Иногда в кормах выявляли сатратоксины.

Необходимо отметить, что случаи респираторных стахиботриотоксикозов наблюдались и у людей, имевших контакт с пораженными S. alternans кормами или целлюлозосодержащим сырьем [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Ožegovic L. et al., 1971]. При этом отмечалось раздражение слизистых оболочек глаз, носовой и ротовой полостей, зева, бронхов (иногда с кровотечениями) и кожи.

Дендродохиотоксикоз — микотоксикоз, впервые описанный у лошадей в 1937 г. на Украине [Саркисов А. Х., 1954]. Из грубых кормов, явившихся причиной заболевания, Н. М. Пидопличко и В. И. Билай (1947) выделили ранее не описанный гриб, получивший название Dendrodochium toxicum Pid. et Bil. Заболевание наблюдалось главным образом в период зимне-весеннего стойлового содержания лошадей и характеризовалось молниеносным, часто бессимптомным развитием и гибелью в течение суток после поедания токсичного корма. Преобладали явления нарушения сер-

дечной деятельности — тахикардия и аритмия. Патологоанатомическая картина характеризовалась выраженным полнокровием органов и тканей грудной клетки, кровоизлияниями в мышцах, легких и бронхах, в то время как органы брюшной полости были анемичными; в паренхиматозных органах изменения не обнаруживались [Саркисов А. Х., 1954]. К токсическому действию D. toxicum чувствительны овцы и куры, а также многие лабораторные животные [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970]. Из токсигенных штаммов D. toxicum был выделен ряд токсичных соединений — дендродохинов, которые у лабораторных животных вызывали отравление, по клинической симптоматике напоминающее дендродохиотоксикоз лошадей. LD_{50} для мышей варьировала от 2,5 до 7,2, для кроликов составляла 1,5, для морских свинок — 9,4, а для крыс — 11,1 мг/кг. Из культуры двух штаммов D. toxicum выделили также веррукарин А и роридин А [Панозишвили К. П., Боровков А. В., 1977]. Следует подчеркнуть, что у людей, занятых переработкой хлопка-сырца, пораженного D. toxicum, наблюдались катаральные конъюнктивиты и поражение кожи лица.

Уровская (Кашина — Бека) болезнь — эндемическое заболевание, характеризующееся поражением костно-суставной системы, неясной этиологии. Впервые оно было отмечено в Забайкалье среди населения долины реки Урова и описано в 1849 г. И. М. Юренским. Значительный вклад в изучение этого заболевания сделали в конце 19-го — начале 20-го века русские ученые Н. И. Кашин и Е. В. Бек [Рубинштейн Ю. И., 1953, 1960]. Болезнь развивается у детей дошкольного и школьного возраста и проявляется главным образом в укорочении длинных трубчатых костей, утолщении и деформации суставов, развитии сгибательных контрактур и атрофии мышц. На ранних стадиях отмечаются общее недомогание, слабость, быстрая утомляемость, иногда боли в суставах. Не удалось выявить каких-либо специфических симптомов или изменений гематологических показателей, позволяющих диагностировать болезнь в ее начальной стадии. Течение заболевания хроническое вплоть до окончания роста скелета.

Эндемические очаги уровской болезни обнаружены в СССР в Забайкалье и на Дальнем Востоке, отдельные случаи — в районах Иркутска, Вологодской, Псковской и Ленинградской областях. Широко распространено это заболевание в Южной Корее и на севере Китая, описаны отдельные случаи в Швеции и Нидерландах [Рубинштейн Ю. И., 1960].

В процессе изучения этиологии уровской болезни выдвигалось несколько гипотез, среди которых наибольшее распространение получила гипотеза о ведущей роли недостаточности кальция в питьевой воде и пищевых продуктах в эндемичных по этому заболеванию регионах [Георгиевский А. П., 1952; Геллер Г. М. и др., 1954]. Однако до настоящего времени эти предположения экспериментально не доказаны. Ф. П. Сергиевский предположил, что этиологическую роль в развитии уровской болезни играют

микотоксины. Это подтверждено работами Ю. И. Рубинштейна. Из зерна, отобранного в очагах болезни, были выделены токсические штаммы F. sporotrichiella var. poae, которые при введении растущим крысам и собакам вызывали характерные для этого заболевания симптомы: полное прекращение энхондрального роста трубчатых костей у крыс, утолщение эпифизов, искривление плечевых и бедренных костей, укорочение костей передних конечностей у собак [Рубинштейн Ю. И., 1953]. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что в эндемичных районах среди токсигенных штаммов F. sporotrichiella существуют разновидности, продуцирующие неидентифицированные токсины, которые обладают избирательной способностью нарушать минеральный обмен, рост и развитие костной ткани. Н. В. Перкель (1960), изучавший микофлору зерновых продуктов в очагах уровской болезни, отмечал, что штаммы F. sporotrichiella, способные вызывать остеодистрофию, встречаются редко и, по-видимому, только в восточном Забайкалье. К сожалению, эти исследования не продолжаются на современном методическом уровне и до настоящего времени этиология уровской болезни не установлена.

Таким образом, при рассмотрении клинической картины микотоксикозов, вызываемых микроскопическими грибами-продуцентами ТТМТ, можно выделить следующие наиболее часто встречающиеся симптомы: отсутствие аппетита, отказ от корма, рвота; развитие геморрагического синдрома; нарушение функций желудочно-кишечного тракта; дерматотоксический эффект (воспалительные изменения, отеки, некрозы); лейкопения, тромбоцитопения, анемия, в частности, при подостром и хроническом течении токсикоза; выраженные деструктивные изменения кроветворных и иммунокомпетентных органов. Этот симптомокомплекс с той или иной степенью полноты был воспроизведен при использовании отдельных ТТМТ в экспериментах на сельскохозяйственных и лабораторных животных

При анализе токсичности некоторых ТТМТ для мышей выявлено, что токсины типа С являются самыми токсичными, а соединения типа D, основной представитель — кротоцин, малотоксичны (табл. 22). Прослеживается и определенная зависимость токсических свойств от структурных особенностей боковой цепи: Т-2-токсин значительно более токсичен, чем НТ-2-токсин (4-деацетил Т-2-токсин); фузаренон-Х (4-ацетилниваленол) более токсичен, чем ниваленол; 8-ацетилнеосоланиол значительно токсичнее неосоланиола (LD_{50} для цыплят соответственно 3,22 и 24,87 мг/кг). Существенное влияние на биологическую активность ТТМТ оказывают и замещения при С-15: триходермин и триходермол являются практически нетоксичными соединениями. Оказалось, что не существует резко выраженных видовых отличий в чувствительности животных, например, к Т-2-токсину: LD_{50} при различных способах введения для свиней, морских свинок, крыс, мышей, цыплят, радужной форели и кур находится в пределах 1,21—6,27 мг/кг. Исключение составляют кошки, для которых

Таблица 22. Значения LD_{50} трихотеценовых микотоксинов для мышей при различных способах введения *

Тип ТТМТ	Микотоксин	LD_{50}, мг на 1 кг массы тела	
		внутрибрюшинно	внутрь
A	Т-2-токсин	5,2	6,7
	НТ-2-токсин	9,2	12,7
	Т-2-триол	68,0	—
	Диацетоксискирпенол	23,0	—
	Неосоланиол	14,5	27,0
B	Ниваленол	4,1	—
	Фузаренон-Х	3,4	4,5
	Диацетилниваленол	9,6	—
	Дезоксиниваленол	70,0	46,0
	3-Ацетилдезоксиниваленол	49,0	—
	Трихотецин	Более 250	—
C	Роридин А	0,5	—
	Веррукарин А	0,5	—
	Веррукарин В	7,0	—
	Веррукарин J	0,5	—
	Сатратоксин Н	2,6	7,0
D	Кротоцин	Более 500	—

* По *Левицкой А. Б. и др.* (1985), Mirocha C. (1979), Hintikka E. (1983), Ueno Y. (1983, 1984).

LD_{50} Т-2-токсина при подкожном введении составляет всего 0,5 мг/кг [Mirocha C., 1979].

Как уже отмечалось, отказ от корма и рвота являются постоянными симптомами фузариотоксикозов сельскохозяйственных животных, а также экспериментальных токсикозов, вызываемых ТТМТ. Они особенно выражены у свиней, утят, кошек, собак, обезьян. У свиней эти симптомы выявляются при концентрации дезоксиниваленола, равной 1 мг на 1 кг корма; Т-2-токсина — 10, а диацетоксискирпенола 4 мг на 1 кг корма [Forsyth D. et al., 1977; Vesonder R. et al., 1977; Schweighard H., Schuh M., 1981]. У собак рвота наблюдается при концентрации дезоксиниваленола, равной 0,1, а у утят — 10,5—13,5 мг на 1 кг корма. Рвота является одним из основных симптомов интоксикации фузареноном-Х у морских свинок, кошек, цыплят, утят и свиней [Ueno Y. et al., 1971]. Y. Matsuoka и соавт. (1979) в опытах на собаках показали, что предварительное введение животным метоклопрамида или аминозина полностью предотвращают рвотное действие фузаренона-Х. Предполагают, что ТТМТ стимулируют триггерные зоны продолговатого мозга, тем самым вызывая рвоту.

При трихотеценовых микотоксикозах выявляются и другие признаки поражения ЦНС. Например, у мышей, крыс, кошек, свиней, телят наблюдаются нарушения координации движений и

парезы задних конечностей при введении Т-2-токсина; у овец — тремор, ослабление тактильной и болевой чувствительности, атаксия и частичная потеря зрения; у цыплят — ненормальное положение крыльев, ослабление рефлексов, судороги [Рухляда В. В. и др., 1982; Рухляда В. В., 1983; Weaver G. et al., 1978, 1980; Chi M. et al., 1981, и др.]. Острое отравление диацетоксискирпенолом у свиней также вызывало парезы задних конечностей, а введение фузаренона-Х мышам приводило к нарушению координации движений.

Одним из характерных симптомов острого токсического действия Т-2-токсина, дезоксиниваленола и фузаренона-Х является диарея, которая постоянно выявляется у крыс, мышей, кошек, кроликов, цыплят, овец, крупного рогатого скота [Рухляда В. В. и др., 1982; Кравченко Л. В. и др., 1983а; Ueno Y., 1977; Gentry P., Cooper M., 1981]. В исследованиях на крысах показано, что одной из возможных причин диареи, развивающейся при действии фузаренона-Х, является повышение проницаемости клеточных мембран слизистой оболочки тонкой кишки [Matsuoka Y., Kubota K., 1982].

Большинству ТТМТ присущи дерматотоксические свойства, выявление которых положено в основу широко используемого биологического метода обнаружения этой группы соединений [Саркисов А. Х., 1942, 1954; Wei R. et al., 1972; Chung C. et al., 1974]. При нанесении на кожу кроликов, крыс, мышей или морских свинок растворов ТТМТ в зависимости от их концентрации появляются покраснение, отек или глубокий некроз ткани. По данным R. Wei и соавт. (1972), при нанесении Т-2-токсина на кожу белых крыс в количестве всего 0,05—0,1 мкг через 24 ч развивается стойкое покраснение кожи на месте нанесения; при дозе 0,5—1 мкг, кроме покраснения, отмечается отечность ткани, а при концентрации 2—5 мкг появляется серозный экссудат и через 72 ч образуется струп. Высокой чувствительностью к дерматотоксическому действию трихотеценовых микотоксинов обладают морские свинки. Следует подчеркнуть, что дерматотоксические свойства значительно сильнее выражены у ТТМТ типа С (минимальная эффективная доза веррукарина А и роридина А для морских свинок 0,05 мкг), чем у представителей типов А (Т-2-токсина и диацетоксискирпенола — 0,2 мкг) и В (ниваленола и дезоксиниваленола — около 10 мкг).

При остром и подостром Т-2-токсикозе у крыс и мышей наблюдаются экссудативные дерматиты и гиперкератоз кожи вокруг рта, некрозы слизистых оболочек ротовой полости, у свиней и овец — эрозии и некрозы кожи губ и слизистых оболочек ротовой полости и глотки [Рухляда В. В. и др., 1982; Кравченко Л. В. и др., 1983а, б; Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., 1984; Hayes M. et al., 1980; Rafai P., Tuboly S., 1982]. У мышей при содержании Т-2-токсина в корме в количестве более 5 мг/кг в течение 6 нед наблюдалось развитие дерматитов лап, хвоста и кожи вокруг рта [Friend S. et al., 1983]. При подостром экспериментальном Т-2-

микотоксикозе у кроликов обнаруживали некрозы слизистой оболочки губ, дерматиты на подбородочной области и ушных раковинах [Рухляда В. В., 1982]. Особенно характерны некротические поражения слизистой оболочки ротовой полости при Т-2-токсикозе у птиц. Этот симптом обнаруживается одним из первых и является наиболее постоянным, вследствие чего он справедливо рассматриается как основной диагностический признак Т-2-токсикоза у домашней птицы [Котик А. Н., Труфанова В. А., 1977, 1980; Wyatt R. et al., 1972]. Некрозы слизистой оболочки ротовой полости и языка развиваются при включении в корм Т-2-токсина в концентрации 0,5 мг/кг у индюшат, 0,3 мг/кг — у гусят и всего 0,25 мг/кг — у утят. Время развития некрозов также зависит от концентрации токсина и находится в пределах от 1 до 7 дней [Котик А. Н., Труфанова В. А., 1977, 1980; Котик А. Н. и др., 1979; Пилипенко М. Е. и др., 1979, 1981; Труфанова В. А. и др., 1980]. M. Chi и C. Mirocha (1978) в опытах на цыплятах показали, что диацетоксискирпенол вызывает более тяжелые поражения слизистых оболочек, чем Т-2-токсин, в то время как кротоцин не оказывает дерматотоксического действия.

Поражение кожных покровов (раздражение, болезненность, зуд) наблюдалось у людей, занятых переработкой сырья, пораженного Stachybotrys alternans и Dendrodochium toxicum [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970]. И в лабораторных условиях при контакте с экстрактами, содержащими Т-2-токсин и фузаренон-Х у сотрудников отмечались сильное раздражение и шелушение кожи рук и лица [Bamburg J., Strong F., 1971].

Другим важнейшим постоянным признаком природных алиментарных трихотеценовых микотоксикозов является геморрагический синдром. Однако, как уже отмечалось, в экспериментальных условиях при использовании чистых препаратов ТТМТ (Т-2-токсина, диацетоксискирпенола, дезоксиниваленола) этот синдром воспроизвести не всегда удается [Кравченко Л. В. и др., 1983а; Chi M. et al., 1977; Weaver G. et al., 1978, 1980]. В частности, геморрагический синдром не наблюдали при экспериментальном Т-2-токсикозе у крупного рогатого скота, свиней, лошадей пони, крыс и мышей. В то же время нам совместно с В. Б. Спиричевым удалось вызвать у крыс выраженный геморрагический синдром при введении Т-2-токсина на фоне гиповитаминоза Е [Кравченко Л. В. и др., 1985]. Множественные кровоизлияния в подкожной клетчатке, внутренних органах, слизистой оболочке тонкой кишки наблюдали также у овец и кроликов как при остром, так и подостром Т-2-микотоксикозе [Рухляда В. В., 1982, 1983]. Кровоизлияния в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта и лимфатических узлах наблюдали у кошек при остром Т-2-токсикозе, а петехиальные кровоизлияния — на лице макак резусов [Rukmini C. et al., 1980; Lutsky I., Mor N., 1981]. W. Huff и соавт. (1981) обнаружили кровоизлияния в слизистой оболочке кишечника, печени и мышцах цыплят при введении им внутрь больших доз (280—1120 мг/кг) дезоксиниваленола. Влияние на-

менения наблюдали у мышей при введении им летальных доз роридина А [Samples D. et al., 1984].

C. Mirocha (1983) считает, что геморрагический эффект более характерен для токсического действия моно-, ди- и триацетоксискирпенола, чем для Т-2-токсина и его производных. Полагают, что в основе геморрагического синдрома лежит вызванное ТТМТ снижение свертываемости крови. J. Doerr и соавт. (1981) показали, что при высоком уровне загрязнения кормов Т-2-токсином (до 16 мг/кг) в плазме крови у однодневных цыплят значительно уменьшается содержание факторов свертываемости VII, X, II (протромбина) и I (фибриногена). При внутривенном введении Т-2-токсина в дозе 0,25 мг/кг телятам в плазме крови существенно падала концентрация факторов I, VII, IX, X и XI [Gentry P., Cooper M., 1983].

Наиболее общими для всех видов животных гематологическими показателями интоксикации ТТМТ являются лейкопения, тромбоцитопения и анемия. Лейкоцитопения у лабораторных животных развивается достаточно быстро и при низких концентрациях ТТМТ.

Еще в 1948 г. Ю. И. Рубинштейн и Л. С. Лясс показали, что у кошек при кормлении зерном, искусственно зараженным токсигенным штаммом F. sporotrichiella в количестве всего 8 мг/кг, через 3 нед развивается стойкая лейкоцитопения. По данным I. Lutsky и N. Mor (1981), у кошек, получавших Т-2-токсин внутрь в дозе 0,08 мг/кг через день, в конце 3-й недели эксперимента были выраженные анемия, лейкоцитопения и тромбоцитопения. У цыплят, морских свинок и обезьян при внутрижелудочном введении этого токсина лейкопению и лимфопению наблюдали спустя 2—3 нед [De Nicola D. et al., 1978; Rukmini C., 1983]. У мышей, получавших Т-2-токсин с кормом (10—20 мг на 1 кг корма) в течение 2 нед, лейкопения, лимфопения и анемия оказались сильно выраженными [Hayes M., Schiefer H., 1982]. В исследованиях, проведенных нами совместно с А. Б. Левицкой, было обнаружено, что при внутрижелудочном введении мышам Т-2-токсина в дозе 1,3 ($^1/_5$ LD_{50}), 0,67 ($^1/_{10}$ LD_{50}) или 0,36 ($^1/_{20}$ LD_{50}) мг/кг число лейкоцитов, лимфоцитов и эритроцитов достоверно уменьшалось в периферической крови соответственно на 7-й, 14-й и 30-й дни опыта. Даже при введении дозы всего 0,13 мг/кг в период с 30-го по 60-й день наблюдались умеренная лейкопения, лимфопения и анемия. Лейкопению обнаруживали при Т-2-микотоксикозе у овец, телят и свиней [Рухляда В. В., 1983; Rafai P., Tuboly S., 1982; Gentry P. et al., 1984]. У кроликов уменьшение числа лейкоцитов в периферической крови наблюдали при внутривенном введении Т-2-токсина [Gentry P., Cooper M., 1981]. У крыс не обнаружили каких-либо изменений гематологических показателей при Т-2-токсикозе, а внутривенное введение диацетоксискирпенола и веррукарина А приводило к развитию лейкопении через 4—5 нед [Ueno Y., 1983].

Имеются данные о действии диацетоксискирпенола на челове-

ка. При использовании его в клинике в качестве противоопухолевого препарата (внутривенное капельное введение в дозе 4,1 мг/кг) спустя 24 дня у больных была обнаружена выраженная лейкопения [Goodwin W. et al., 1978].

Значительный интерес представляют данные о характере изменений активности ферментов крови. Многие авторы при Т-2-микотоксикозе отмечали в сыворотке крови возрастание активности лактатдегидрогеназы и аминотрансфераз и снижение активности щелочной фосфатазы. Такие изменения обнаружены при остром и подостром Т-2-токсикозе у цыплят, овец и крупного рогатого скота. У кроликов повышение активности аланинаминотрансферазы и снижение активности щелочной фосфатазы были значительными при внутривенном введении Т-2-токсина и слабовыраженными при введении токсина внутрь. Уменьшение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови наблюдали у крыс при введении им с кормом в течение 28 дней Т-2-токсина в дозе 10—20 мг/кг [Рухляда В. В., Шайда Д. А., 1983; Gentry P., Cooper M., 1981; Hayes M., Schiefer H., 1982; Chan P., Gentry P., 1984, и др.].

Мы обнаружили, что как при включении в корм крыс зерна, зараженного токсигенным штаммом F. sporotrichiella, так и при введении им внутрь чистого Т-2-токсина в различных концентрациях, в сыворотке крови резко падала активность щелочной фосфатазы, а также большинства лизосомных ферментов (арилсульфатаз А и В, кислой РНКазы, β-N-ацетилглюкозаминидазы и α-маннозидазы) [Авреньева Л. И. и др., 1983; Кравченко Л. В. и др., 1983а, б; Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., 1984]. Важно отметить, что снижение активности лизосомных гидролаз в сыворотке крови является следствием уменьшения их активности в печени и в определенной степени уменьшения проницаемости клеточных мембран (о чем свидетельствует снижение при Т-2-токсикозе неседиментируемой активности этих ферментов в ткани печени). В то же время падение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови происходит при одновременном увеличении ее активности в печени, селезенке и вилочковой железе. На основании этих данных можно сделать вывод о том, что снижение активности щелочной фосфатазы является результатом повреждения Т-2-токсином эпителиальных клеток тонкой кишки — одного из основных источников фермента в сыворотке крови. Столь же стойкое и значительное подавление активности щелочной фосфатазы мы выявили в сыворотке крови мышей при введении им внутрь Т-2-токсина в количествах, соответствующих LD_{50}, $^1/_5$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ и даже $^1/_{50}$ LD_{50} [Леницкая А. Б. и др., 1985].

Обнаруживаемые гематологические изменения при микотоксикозах, вызванных Т-2-токсином и диацетоксискирпенолом, сопровождаются выраженными дегенеративными и некротическими изменениями кроветворных и иммунокомпетентных органов. Многочисленными исследованиями убедительно показано, что органами-мишенями для Т-2-токсина являются костный мозг, селезенка,

вилочковая железа, лимфоидная ткань, а у птиц — фабрициева сумка [Котик А. Н., Труфанова В. И., 1977; Кравченко Л. В. и др., 1983а, б; Hayes M. et al., 1980; Lutsky I., Mor N., 1981; Rukmini C., 1983, и др.]. Так, введение с пищей мышам Т-2-токсина в дозе 20 мг на 1 кг корма приводит к гипоплазии костного мозга, лимфоидной ткани и селезенки, а также атрофии вилочковой железы и пейеровых бляшек [Hayes M. et al., 1980]. У свиней, получавших Т-2-токсин с кормом (5 мг/кг) значительно уменьшалась масса основных лимфоидных органов [Rafai P., Tuboly S., 1982]. У морских свинок при этом токсикозе обнаруживали выраженную гипоплазию и некрозы костного мозга, лимфоидной ткани и семенников [De Nicola D. et al., 1978]. У крыс при однократном внутрижелудочном введении Т-2-токсина в дозе, соответствующей LD_{50}, уже через 1 ч в вилочковой железе наблюдались разобщение отдельных тимоцитов и набухание их органелл, а через 12—24 ч — четко ограниченные очаги некроза. В селезенке ультраструктурные изменения были более выражены а охватывали клетки всех кроветворных ростков [Кравченко Л. В. и др., 1983b].

В опытах на однодневных цыплятах было обнаружено, что Т-2-токсин, фузаренон-Х и ниваленол вызывают избирательную дегенерацию и некрозы только лимфоидных клеток фолликулов фабрициевой сумки [Terao K. et al., 1978]. Диацетоксискирпенол, также как и Т-2-токсин, у свиней и морских свинок поражал главным образом костный мозг и лимфоидную ткань [Weaver G. et al., 1978; Kriegleder H., 1981]. Y. Ueno и соавт. (1971) отметили, что для острого токсического действия фузаренона-Х на мышей и крыс наиболее характерно поражение активно делящихся клеток слизистой оболочки кишечника, лимфатических узлов, селезенки, костного мозга и яичников.

Столь выраженное повреждающее действие ТТМТ на центральные и периферические органы иммунной системы обусловливает и значительные нарушения иммунореактивности. По-видимому не будет большим преувеличением, если мы сравним симптомокомплекс, характерный для действия ТТМТ, с так называемым Wasting-синдромом (истощение, малорослость, диарея, дерматиты, выпадение шерсти, атрофия тимусзависимых зон селезенки и лимфатических узлов, лимфопения и нейтрофилез), развивающимся при удалении вилочковой железы у новорожденных животных [Петров Р. В., 1983]. Несмотря на то что данные о влиянии ТТМТ на иммунный ответ и неспецифические факторы иммунитета малочисленны и неоднозначны, не вызывает сомнений, что эти токсины обладают свойствами иммунодепрессантов и действуют преимущественно на клеточные (Т-зависимые) формы иммунного ответа.

В опытах на мышах линии Swiss было показано, что внутрибрюшинное введение Т-2-токсина, так же как и инъекции диацетоксискирпенола, приводит к значительному увеличению периода *отторжения* кожного трансплантата [Rosenstein Y. et al., 1979].

Введение этого токсина мышам линии ddY/a через 2 дня после сенсибилизации их эритроцитами барана сопровождалось усилением реакции гиперчувствительности замедленного типа [Masuko H. et al., 1977; Otokawa M. et al., 1979]. При остром Т-2-токсикозе у мышей линии Swiss, морских свинок, обезьян, растущих свиней, крупного рогатого скота реакция бласттрансформации лимфоцитов из селезенки при воздействии конканавалина А значительно снижалась, а в некоторых случаях подавлялась и реакция розеткообразования с эритроцитами барана [Rafai P., Tuboly S., 1982; Buening G. et al., 1982; Ito H. et al., 1982; Rukmini C., 1983; Friend S. et al., 1983]. У некоторых видов животных (обезьяны, морские свинки) при Т-2-токсикозе наряду с уменьшением количества Т-лимфоцитов и угнетением их функциональной активности уменьшались количество В-клеток и уровень иммуноглобулинов в крови [Jagadeesan V. et al., 1982; Ito H. et al., 1982]. Снижение количества иммуноглобулинов в крови обнаруживали и у телят при длительном введении им Т-2-токсина [Mann D. et al., 1982].

Т-2-токсин подавлял in vitro реакцию бласттрансформации лимфоцитов из селезенки морских свинок, стимулированных как конканавалином А, так и липополисахаридом, что также свидетельствует о влиянии токсина и на клеточные (Т-зависимые), и на гуморальные (В-зависимые) формы иммунного ответа. У мышей и индеек выявлено снижение антителообразования в ответ на введение эритроцитов барана, а у морских свинок — на инъекцию динитрофенил-альбумина (бычьего сывороточного) на фоне Т-2-токсикоза [Пилипенко М. Е. и др., 1979; Rosenstein Y. et al., 1979; Ito H. et al., 1982]. В то же время H. Masuko в соавт. (1977) и M. Otokawa и соавт. (1979) не обнаружили какого-либо влияния Т-2-токсина на антителообразование у мышей линии ddY/a в ответ на введение эритроцитов барана.

Непосредственное влияние Т-2-токсина на антителогенез изучали на культуре клеток МОРС 31 С (из IgG-продуцирующей миеломы мыши). Оказалось, что синтез IgG значительно снижался при концентрации микотоксина, равной 0,5 нг на 1 мл среды, и полностью подавлялся при дозе в 5 нг/мл [Otokawa M., 1983].

При изучении иммунодепрессивных свойств фузаренона-Х в опытах на морских свинках показано, что в отличие от Т-2-токсина это соединение не влияет на антителообразование в ответ на введение динитрофенил-альбумина, хотя и угнетает функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, определяемую in vitro по реакции бласттрансформации, стимулированной как конканавалином А, так и липополисахаридом [Ito H. et al., 1982]. Ингибирующее действие фузаренона-Х при этом было в 10 раз слабее, чем Т-2-токсина. У цыплят, получавших фузаренон-Х с кормом, также не было обнаружено достоверного изменения антителообразования в ответ на введение вакцины, содержавшей вирус болезни Ньюкасла [Sato T. et al., 1981]. У мышей линии BALB/c введение фузаренона-Х до антигенной стимуляции динитрофенил-

альбумином (и в меньшей степени после стимуляции) приводило к подавлению образования IgE- и IgG_1-антител. В клетках селезенок, выделенных от животных с этим токсикозом, стимуляция биосинтеза антител митогеном лаконоса или липополисахаридом была значительно угнетена [Masuda E. et al., 1982a]. В опытах in vitro фузаренон-X подавлял реакцию бласттрансформации лимфоцитов мыши, стимулированную фитогемагглютинином, конканавалином А и бактериальным липополисахаридом. E. Masuda и соавт. (1982a, b) привели доказательства в пользу высказанной ими гипотезы о причинах иммунодефицитного состояния, развивающегося при интоксикации фузаренопом-X. Авторы полагают, что токсин индуцирует образование в селезенке мышей клеток, не относящихся к лимфоцитам и обладающих супрессорной активностью (возможно, макрофагов).

ТТМТ, в частности Т-2-токсин, подавляют и реакции неспецифической защиты у различных животных [Левицкая А. Б. и др., 1984; Елистратова Н., Беспалов В., 1981; Jagadeesan V. et al., 1982; Mann D. et al., 1982]. В эксперименте Т-2-токсин повышал чувствительность цыплят к сальмонеллам, а мышей — к Mycobacterium obvis и вирусу японского энцефалита [Otokawa M., 1983].

Доказано, что ТТМТ оказывают токсическое действие на различные клеточные культуры, беспозвоночных, растения и грибы [Smalley E., Strong F., 1974; Ueno Y., 1977, 1983]. В исследованиях, проведенных на культурах клеток различных тканей человека, клеток почки хомячка, эпителиальных клеток почки свиньи, ретикулоцитов кролика и мышиных фибробластов показано, что цитотоксические свойства ТТМТ коррелируют с их дерматотоксичностью и другими проявлениями биологической активности. Т. Tanaka и соавт. (1977), сравнивая цитотоксичность 20 ТТМТ на культурах трех различных типов клеток, пришли к выводу, что макроциклические микотоксины являются наиболее сильными ингибиторами клеточного роста. ТТМТ типа А более активны в отношении клеток HeLa (ID_{50} составляет 0,01 мкг/мл), чем токсины типа В (ID_{50} —0,1—1 мкг/мл). ID_{50} ТТМТ типа С — веррукарина А и роридина А составляют соответственно 0,005 и 0,0003 мкг/мл. Цитотоксичность в значительной степени зависит от структурных особенностей отдельных ТТМТ. Так, ID_{50} Т-2-токсина для фибробластов человека составляет 0,004 мкг/мл, а Т-2-тетраола, гидроксильного производного Т-2-токсина, — уже 0,25 мкг/мл [Oldham J. et al., 1980]. Размыкание эпоксидного кольца при С-12; 13 приводит к полной потере цитотоксических свойств по отношению к культурам клеток [Ueno Y., 1983].

Среди низших беспозвоночных чувствительными к ТТМТ оказались простейшие — Tetrahymena pyriformis и Colpidium campylum, а среди высших беспозвоночных — ракообразные (артемии и дафнии), насекомые (жуки, комары), иглокожие (морские ежи). Следует отметить, что личинки артемии (Artemia salina) широко используются в качестве чувствительного биологического

тест-объекта для обнаружения ТТМТ [Eppley R., 1974]. К токсическому действию ТТМТ чувствительны личинки Daphnia magna (LD_{50} диацетоксискирпенола 1,2 мкг/мл); яйца и личинки морского ежа (Hemicentrotus pulcherrimus), для которых ED_{100} Т-2-токсина и неосоланиола составляет соответственно 0,025 и 5 мкг/мл [Osame J. et al., 1978]. Сравнение ларвицидной активности 36 ТТМТ в отношении личинок комаров желтой лихорадки (Aedes aegypti) показало, что наиболее токсичными соединениями для них являются макроциклические токсины — веррукарины А и В и роридин Н, а также Т-2-токсин, моно- и диацетильные производные скирпентриола [Grove J., Hosken M., 1975]. ТТМТ типа А проявляют более выраженную токсичность по отношению к куриным эмбрионам, чем микотоксины типа В. LD_{50} Т-2-токсина, диацетоксискирпенола и НТ-2-токсина составляет 0,07; 0,09 и 0,5 мкг/яйцо, в то время как LD_{50} ниваленола, фузаренона-Х и диацетилниваленола соответственно 4, 2,6 и 1,9 мкг/яйцо [Ueno Y., 1977].

ТТМТ обладают и сильными фитотоксическими свойствами. Они обнаружены у Т-2-токсина, фузаренона-Х, макроциклических токсинов, а также у фильтратов культур токсигенных штаммов F. sporotrichiella [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Jarvis B. et al., 1982; Ueno Y., 1983, и др.]. Фузаренон-Х подавлял прорастание различных семян в концентрации 10—100 мкг/мл, в то время как Т-2-токсин был активен при концентрации 2—5 мкг/мл. Еще более активными оказались макроциклические ТТМТ, среди которых максимально выраженными фитотоксическими свойствами обладал веррукарин А (подавлял рост растений в концентрации всего 10^{-8} М).

ТТМТ не проявляют антимикробной активности. H. Burmeister и C. Hesseltine (1970) показали, что Т-2-токсин в концентрации 50 мкг/мл не ингибировал рост ни одного из 54 изученных штаммов бактерий, относящихся к 22 видам. В той же концентрации веррукарин А оказывал лишь слабое подавляющее действие на рост грамотрицательных и не влиял на рост грамположительных бактерий [Bamburg J., Strong F., 1971]. Не обнаружено антимикробной активности у диацетоксискирпенола, триходермина, ниваленола и фузаренона-Х. Трихотецин и кротоцин в концентрации до 400 мкг/мл не влияли на рост изученных видов бактерий. В то же время некоторые ТТМТ (Т-2-токсин, трихотецин, диацетоксискирпенол, веррукарин А, роридин А, кротоцин) проявляют фунгицидные свойства [Билай В. И., 1977; Котик А. Н. и др., 1979; Burmeister H., Hesseltine C., 1970; Bamburg J., Strong F., 1971]. К действию ТТМТ чувствительны Penicillium digitatum, P. notatum, Rhodotorula rubra, R. glutinus, Saccharomyces fragilis, S. carlsbergensis, Candida albicans, Candida pseudotropicalis, Mucor ramannianus, некоторые виды Aspergillus.

Мутагенные, тератогенные и канцерогенные свойства. По данным немногочисленных исследований, ТТМТ не обладают выраженными мутагенными свойствами. Например, с помощью теста

Фимса в опытах на Salmonella typhimurium не удалось выявить мутагенной активности у Т-2-токсина, фузаренона-Х, моно-, ди- и триацетоксискирпенола, дезоксиниваленола и 3-ацетилдезоксиниваленола [Ueno Y., 1977, Kuczuk M. et al., 1978; Wehner F. et al., 1978]. Не обнаружено мутагенного действия ТТМТ и в опытах на клетках эукариот. Исключение составили лишь лимфоидные клетки, в которых Т-2-токсин как in vivo, так и in vitro индуцировал хромосомные мутации. Показано также, что Т-2-токсин, диацетоксискирпенол и сатратоксин Н индуцируют хромосомные аберрации в клетках корешков Allium cepa [Linnainmaa K. et al., 1979; Lafarge-Frayssinet C. et al., 1981].

Тератогенные свойства обнаружены у Т-2-токсина и дезоксиниваленола [Stanford G. et al., 1975; Khera K. et al., 1982]. Введение Т-2-токсина в дозе 1 и 1,5 мг на 1 кг массы тела мышам на 9-й, 10-й или 11-й дни беременности сопровождалось значительным возрастанием пренатальной смертности эмбрионов и развитием различных уродств у плодов. Чаще наблюдались аномалии развития хвоста, конечностей, ребер и позвоночника, а также недоразвитие челюсти. Вомитоксин (дезоксиниваленол) в дозе 2,5 и 5 мг/кг оказывал тератогенное действие на мышей, а в дозах до 10 мг/кг приводил к гибели эмбрионов. Введение фузаренона-Х в дозе 2,6 мг на 1 кг массы тела подкожно или с кормом в количестве 5, 10 или 20 мг на 1 кг корма во время беременности мышей приводило к нарушению имплантации плодов, но аномалии их развития не наблюдались [Ito Y. et al., 1980].

Значительный интерес представляют данные о последствиях длительного воздействия ТТМТ на организм животных. Ю. И. Рубинштейн и соавт. (1961) показали, что при длительном скармливании экстрактов из пшеницы, зараженной токсигенным штаммом F. sporotrichiella, у крыс развивается выраженный папилломатоз с гиперкератозом в слизистой оболочке преджелудка. Опухолевидные образования были обнаружены у 27 из 36 опытных животных и ни у одного из 34 контрольных. Значительно позже K. Ohtsubo и M. Saito (1977) наблюдали аналогичную картину у мышей и крыс, получавших с кормом Т-2-токсин. Содержание животных в течение 12 мес на рационах, в которых концентрация Т-2-токсина составляла 10 мг/кг, приводило к папилломатозному разрастанию эпителия слизистой оболочки преджелудка. Скармливание радужной форели корма, содержащего Т-2-токсин в количестве 0,2 и 0,4 мг/кг, в течение 12 мес не сопровождалось появлением каких-либо патоморфологических изменений, в том числе новообразований [Marasas W. et al., 1969]. При длительном (в течение 108 дней) введении неочищенного токсина из F. nivale козам были обнаружены только дегенеративные изменения в головном мозге и атрофия семенников. У свиней, получавших в течение 8 нед корм, содержащий Т-2-токсин в концентрации 1, 2, 4 и 8 мг/кг, также не наблюдали каких-либо существенных патологических изменений [Ohtsubo K., 1983].

Заслуживает внимания факт обнаружения при хроническом Т-2-токсикозе серьезных нарушений сердечно-сосудистой системы. Растущим крысам линии Wistar — Porton вводили однократно внутрижелудочно Т-2-токсин в дозе 2 мг на 1 кг массы тела, спустя 3 мес процедуру повторяли, через 6 мес вводили токсин в дозе 1 мг/кг, а через 12 мес — в дозе 3 мг/кг. Интересно, что через 17 мес после первого введения токсина у 67% крыс опытной группы отмечалось стойкое повышение артериального давления. При этом были выявлены существенные гистологические изменения в эндотелии сосудов, проявляющиеся в утолщении интимы вплоть до закупорки просвета сосуда, и кальцификация сосудистой стенки [Wilson C. et al., 1982].

В литературе описано только два случая канцерогенного действия ТТМТ на лабораторных животных. Крысы линии Wistar — Porton получали Т-2-токсин внутрижелудочно 3—8 раз в количестве 0,2—3 мг на 1 кг массы тела через разные промежутки времени, что, по мнению авторов, должно было моделировать наиболее вероятную естественную ситуацию эпизодического воздействия на организм различных количеств токсина. Из 25 крыс, оставшихся живыми спустя $12^{1}/_{2}$ мес, у 19 (76%) особей были обнаружены опухоли в одном или нескольких органах. При этом чаще всего развивались аденомы и аденокарциномы в поджелудочной железе (в 16 случаях) и в гипофизе (4 случая); в 4 случаях были обнаружены папилломы и аденокарциномы желудка; в 2 — карциномы молочной железы и в 2 — опухоли головного мозга. У 4 из 20 животных контрольной группы были выявлены аденомы гипофиза [Schoental R. et al., 1979]. В другом опыте крысы линии Donryu получали корм, содержащий фузаренон-Х в концентрации 3,5 и 7 мг/кг в течение 2 лет. В конце эксперимента наблюдали развитие опухолей у 13 из 58 крыс опытной группы (опухоли гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, мочевого пузыря и желудка). Следует, однако, отметить, что случаи новообразований у животных контрольной группы обнаруживались почти также часто — у 11 из 45 крыс [Saito M. et al., 1980]. Увеличение числа аденом легких наблюдали у мышей, получавших в течение 12 мес водные экстракты зерна, зараженного F. sporotrichiella [Ахметели М. А. и др., 1973].

В последние годы появились косвенные доказательства в пользу возможного участия микотоксинов, продуцируемых грибами рода Fusarium, в индукции рака пищевода у людей в некоторых регионах, в частности, в Южной Африке, прикаспийской зоне Ирана и на севере Китая [Marasas W. et al., 1979; Van Rensburg S. et al., 1982]. Так, эпидемиологические наблюдения, проведенные в Транскейе, показали, что в юго-западных районах, где отмечалась высокая частота заболевания раком пищевода (50,3 случая на 10^5 человек в год), уровень загрязнения кукурузы дезоксиниваленолом был в 10 раз выше, чем в северо-восточных районах, в которых частота этого заболевания значительно ниже и составляла 9,1 на 10^5 жителей в год [Marasas W. et al.,

1979] При этом в зерновых продуктах наряду с дезоксиниваленолом был обнаружен и высокий уровень зеараленона. Похожая ситуация наблюдалась и в Китае, где распространенность рака пищевода коррелирует с частотой парши пшеницы, вызванной F. graminearum. Предполагают, что токсины F. moniliforme, обнаруживаемые во многих пищевых продуктах наряду с N-нитрозаминами, также могут играть определенную роль в этиологии рака пищевода в Китае [Mirocha C., 1982; Lu S., Lin P., 1982].

В связи с изложенными данными представляет особый интерес сообщение R. Schoental (1983) о сочетанном действии на организмы животного микотоксинов, продуцируемых грибами Fusarium. Крыс подвергали перинатальному воздействию Т-2-токсина (трехкратная накожная аппликация) и зеараленона (однократное внутрибрюшинное введение на 3-й день жизни в дозе 0,5 мг). Через $21^1/_2$ мес у одной крысы была обнаружена чешуйчатая карцинома носовой раковины с метастазами в головной мозг и промежуточно-клеточная опухоль левого семенника.

Следует упомянуть об одной весьма спорной, но интересной гипотезе R. Schoental (1980) о возможной связи между токсическими метаболитами грибов Fusarium и пеллагрой. Анализируя обширный фактический материал о распространенности этого заболевания в различных странах, автор отметила, что возникновение пеллагры в Европе и Африке в XVIII—XIX вв. совпало с появлением на этих континентах кукурузы и это заболевание наблюдалось главным образом среди неимущих слоев населения, потреблявших в пищу муку из подпорченной и заплесневелой кукурузы. Симптомы пеллагры отмечали и у людей, потреблявших пиво, изготовленное из ячменя, зараженного F. sporotrichiella, и сорго, зараженного F. incarnatum и содержащего Т-2-токсин. Некоторые характерные для пеллагры симптомы (нарушение деятельности желудочно-кишечного тракта, нервной системы, поражение кожи, порфиринурия) наблюдались и при токсикозах, вызванных ТТМТ. Автор подчеркивает также, что вспышки заболевания отмечались обычно весной в районах с влажным и холодным климатом, где часто использовали перезимовавшую под снегом кукурузу. R. Schoental полагает, что с позиций современной микотоксикологии пеллагру следует рассматривать как микотоксикоз, вызываемый ТТМТ. Что касается авитаминоза В и аминокислотного дисбаланса, предполагаемых этиологических факторов пеллагры, то они лишь отражают недостаточность питания и усиливают токсическое действие ТТМТ.

Итак, токсические свойства достаточно подробно изучены лишь у очень немногих из более чем 40 известных ТТМТ. Исключительно широкая распространенность продуцентов этой группы микотоксинов и бесспорные доказательства их опасности для здоровья человека являются вескими причинами возросшего внимания исследователей к изучению ТТМТ и заболеваний, вызываемых этими токсинами.

МЕТАБОЛИЗМ ТРИХОТЕЦЕНОВЫХ МИКОТОКСИНОВ

Процессы биотрансформации ТТМТ в животном организме изучены мало, и имеющиеся сведения касаются главным образом метаболизма Т-2-токсина.

Тканевое распределение и экскреция. В исследованиях, проведенных с использованием меченых ТТМТ — Т-2-токсина и фузаренона-Х, показано, что они быстро всасываются из кишечника, быстро подвергаются метаболизации и в течение 48—72 ч почти полностью выводятся из организма.

У мышей при однократном введении внутрь ^{3}[H]-Т-2-токсина через 30 мин максимальное количество токсина (27% введенной дозы) выявляли в печени, почках и желчи. Через 24—48 ч радиоактивная метка во внутренних органах не обнаруживалась, хотя высокая удельная радиоактивность отмечалась в желчи до 24 ч и в ткани тонкой кишки в течение 48 ч. Эти данные свидетельствуют о том, что Т-2 токсин выводится из печени главным образом через желчь. За 72 ч из организма мышей выводилось около 70% введенного Т-2-токсина: 51% с калом и 17% с мочой. Аналогичные результаты были получены и в опытах на крысах: 57% введенной дозы ^{3}[H]-Т-2-токсина выводилось с калом и 12% — с мочой [Matsumoto H., et al., 1978].

При однократном введении ^{3}[H]-Т-2-токсина внутрь 6-недельным цыплятам-бройлерам в большинстве тканей максимальную концентрацию токсина выявляли через 4 ч, а в мышцах, коже и желчи — через 12 ч. К 4-му часу 74% метки обнаруживали в содержимом желудочно-кишечного тракта, 6,5% — во внутренних органах, 12,8% — в тушке (мышцы, жировая ткань и кровь) и 6,7% — в экскрементах. К 47-му часу содержание токсина в желудочно-кишечном тракте падало до 2,7%, а в экскрементах возрастало до 81,6% введенной дозы. Обращает на себя внимание факт обнаружения наиболее высокой удельной радиоактивности в течение первых 48 ч эксперимента в желчи. С практической точки зрения представляется важным, что концентрация Т-2-токсина в тушке цыплят составляет около $^1/_{10}$ введенной дозы: 0,06 и 0,04 мг/кг соответственно через 24 и 48 ч после введения дозы 0,5 мг на 1 кг массы тела [Chi M. et al., 1978a]. При однократном введении ^{3}[H]-Т-2-токсина курам-несушкам максимальное количество токсина в яйцах обнаруживали через 24 ч. При этом желток содержал 0,04%, а белок — 0,13% введенной дозы. При многократном введении Т-2-токсина его концентрация в белке яиц была также выше, чем в желтке. Количество токсина в яйце после введения его курам в течение 8 дней в дозе 1 мг/кг составило 0,9 мкг [Chi M. et al., 1978b].

Изучение тканевого распределения Т-2-токсина у дойных коров показало, что в плазме крови максимальная концентрация достигается через 8 ч, молоке и моче — через 16 ч, кале — через 44 ч. Спустя 72 ч из организма выводился весь введенный токсин: 71% с калом и около 29% с мочой. Около 0,2% токсина

определяли в молоке [Yoshizawa T. et al., 1981]. При введении Т-2 токсина коровам в количестве 182 мг (соответствует дозе 0,44 мг на 1 кг массы тела) в течение 15 дней наблюдали следующую динамику экскреции его с молоком: на 2-й день 43 мкг/л, на 4-й — не выявляли, на 5-й — 160 мкг/л, на 8-й — не выявляли, на 10-й — 40 мкг/л и на 12-й день — 30 мкг/л [Robinson T. et al., 1979; Weaver G. et al., 1980].

T. Robinson и соавт. (1979) изучали распределение ^{3}[H]-Т-2-токсина у поросят-отъемышей. Через 18 ч после однократного внутрижелудочного введения в мышечной ткани обнаруживали 0,7%, в печени — 0,43%, почках — 0,08%, желчи — 0,06%, а в моче и кале — соответственно 21,6 и 25% введенной дозы. При длительном содержании свиноматки на рационе, включающем Т-2-токсин в концентрации 12 мг/кг, в ее молоке содержание токсина составляло 76 мкг/л.

Как уже отмечалось, сведения об обмене других ТТМТ практически отсутствуют. Y. Ueno и соавт. (1971) при изучении тканевого распределения ^{3}[H]-фузаренона-Х в опытах на мышах через 30 мин после его введения выявляли в печени 3%, в почках — 1%, в кишечнике — 1,5% введенной дозы, незначительные количества токсина обнаруживали в селезенке, желудке, желчи и плазме крови. Спустя 3 ч токсин выявляли только в почках, селезенке и желчи, а через 12 ч он не был обнаружен ни в одном из исследованных органов. Фузаренон-Х выделялся из организма мышей в течение 24 ч с мочой и калом.

Пути превращения ТТМТ. Химический анализ метаболитов Т-2-токсина, выделяемых крысами с калом, показал, что из 45,6% растворимых в метаноле соединений 2,7% приходится на долю неизмененного Т-2-токсина, 7,5% — НТ-2-токсина, а 25,8% и 9,1% — на долю двух неидентифицированных метаболитов, обозначенных соответственно как U-III и U-IV. В моче наряду с НТ-2-токсином (1,4%), 8-гидроксидиацетоксискирпенолом (1,8%) обнаруживали три неидентифицированных компонента: U-I, U-II и U-V [Matsumoto H. et al., 1978].

Как показали T. Yoshizawa и соавт. (1980b), у цыплят около 80% введенного внутрь Т-2-токсина подвергается метаболическому превращению с образованием более полярных соединений, выводящихся с экскрементами в течение 48 ч. Идентификация этих соединений позволила прийти к выводу, что Т-2-токсин, НТ-2-токсин, Т-2-триол (деацетил-НТ-2-токсин), Т-2-тетраол и неосоланиол являются минорными метаболитами и на их долю приходится всего 0,36—1,13% введенной дозы токсина. Основную группу метаболитов составляют 8 неидентифицированных соединений, обозначенных ТВ-1 -- ТВ-8. При этом количество образующихся ТВ-3 и ТВ-8 составляло соответственно около 12% и 25% введенной дозы. Структура одного из метаболитов — ТВ-6 (1,5% введенной дозы Т-2-токсина) была идентифицирована как 4-деацетилнеосоланиол, а другого (ТВ-4) — как 8α-ацетокси-3α, 4β, 15 тригидрокси-12,13-эпокситрихотец-9-ен.

S. Swanson (1980) доказал, что ТВ-6 можно получить in vitro при использовании препаратов печени крысы. Дерматотоксические свойства ТВ-6 были в 10—20 раз менее выраженными, чем у Т-2-токсина, а LD_{50} для растущих крыс линии Wistar при введении внутрь составила 36,2 мг/кг и была близка к LD_{50} другого метаболита Т-2-токсина из экскрементов цыплят — Т-2-тетраола (36,9 мг/кг), в то время как LD_{50} Т-2-токсина, установленная в этих же опытах, составила 2,7 мг/кг. Таким образом, несомненно, что 4-деацетилнеосоланиол, также как и Т-2-тетраол, представляют собой продукты детоксикации Т-2-токсина в организме животных.

T. Yoshizawa и соавт. (1980a) получили близкие результаты при изучении метаболизма Т-2-токсина in vitro. При инкубации в течение 60 мин при 37 °С с надосадочной фракцией гомогенатов печени крыс (9000 g, 20 мин) Т-2-токсин подвергался полному превращению с образованием таких производных, как НТ-2-токсин (49,3%), Т-2-тетраол (4,3%) и два соединения, обозначенные как TMR-1 (18,7%) и TMR-2 (1,6%). Один из метаболитов, TMR-1, был выделен и идентифицирован как 4-деацетилнеосоланиол (т. е. ТВ-6 у цыплят). Интересно, что в тех же условиях инкубации НТ-2-токсин частично превращался в 4-деацетилнеосоланиол (11,5%), Т-2-тетраол (6,6%) и TMR-2 (0,9%). При инкубации Т-2-токсина с препаратами ткани желудка при pH 2,2 наблюдалось образование только НТ-2-токсина (7%), а при pH 7,5 — НТ-2-токсина (18%), 4-деацетилнеосоланиола (3,5%) и неосоланиола (4,4%); более 50% Т-2-токсина оставалось в неизмененном виде. Гомогенаты ткани кишечника, также как и печени, активно метаболизировали Т-2-токсин с образованием НТ-2-токсина (45,5%) и 4-деацетилнеосоланиола (12,9%), причем только 5% Т-2-токсина оставалось неизмененным.

Есть все основания полагать, что в тканях крыс и других животных Т-2-токсин при участии микросомных ферментных систем подвергается деацетилированию с образованием НТ-2-токсина, затем 4-деацетилнеосоланиола и, наконец, Т-2-тетраола. Кроме этого, в ткани кишечника возможен и другой путь биотрансформации Т-2-токсина: Т-2-токсин→неосоланиол→4-деацетилнеосоланиол→Т-2-тетраол (схема 18).

Анализ метаболитов Т-2-токсина, экскретируемых с мочой и калом у коров, показал, что НТ-2-токсин, неосоланиол, 4-деацетилнеосоланиол и еще три неидентифицированных соединения, обозначенных как ТС-5, ТС-7 и ТС-8, составляют группу минорных метаболитов, в то время как основными являются ранее неизвестные 3′-окси-Т-2-токсин (ТС-1), 3′-окси-НТ-2-токсин (ТС-3) и соединение ТС-6 с неустановленной структурой. Их количество составляло 30—40% всех выявляемых в течение первых 24 ч производных Т-2-токсина в моче; 60—70% — в молоке и 50—60% — в плазме крови. Метаболит ТС-6 являлся одним из основных производных Т-2-токсинов, определяемых в печени коров. При введении ^{3}[H]-Т-2-токсина беременным животным эти соединения вы-

Схема 18.
Пути метаболизма Т-2-токсина.

являли также в печени и желудке плодов и в амниотической жидкости [Yoshizawa T. et al., 1981, 1982].

В опытах на мышах линии ddYs было показано, что при однократном внутрибрюшинном введении LD_{50} 3′-окси-Т-2-токсина составляла 4,63 мг/кг и существенно не отличалась от LD_{50} Т-2-токсина (5,31 мг/кг), в то время как LD_{50} 3′-окси-НТ-2-токсина была в 3 раза больше, чем для НТ-2-токсина (22,8 против 6,5 мг/кг). Гистологические изменения, вызываемые 3′-окси-Т-2-токсином, выражались в некрозах эпителия слизистой оболочки кишечника, гипоплазии или атрофии вилочковой железы, селезенки и костного мозга [Yoshizawa T. et al., 1982]. Этими экспери-

ментами доказано, что у коров Т-2-токсин наряду с деацетилированием может подвергаться окислению с образованием оксипроизводных Т-2 и НТ-2-токсинов.

В более поздних исследованиях T. Yoshizawa и соавт. (1984) обнаружили in vitro при инкубации гомогенатов печени мышей и обезьян с Т-2-токсином, кроме НТ-2-токсина, неосоланиола, деацетилнеосоланиола и Т-2-тетраола, два 3'-ОН-производных Т-2- и НТ-2-токсинов. Эти производные образовывались в микросомной фракции в присутствии NADPH. Важно, что предварительное введение животным фенобарбитала приводило к значительному усилению этого процесса. По-видимому, в гидроксилировании Т-2- и НТ-2-токсинов участвуют цитохром Р-450-зависимые монооксигеназы.

Роль микросомных гидролаз в метаболизме ТТМТ изучали M. Ohta и соавт. (1977, 1978). При инкубации Т-2-токсина с надмитохондриальным надосадком печени крыс при 37 °С наблюдалось его быстрое превращение в НТ-2-токсин. При изучении внутриклеточной локализации фермента, участвующего в деацетилировании Т-2-токсина, оказалось, что его максимальная активность связана с фракцией микросом. В митохондриальной фракции активность фермента была в 10 раз ниже, а в цитозоле не выявлялась вовсе. Скорость реакции деацетилирования Т-2-токсина подавлялась в присутствии NADPH и NADH и полностью тормозилась при добавлении в среду эзерина и диизопропилфторфосфата. Активность микросом, выделенных из ткани головного мозга и почек крыс, была значительно ниже, а микросомы из толстой кишки и клеток крови вообще не обладали деацетилирующей активностью. Сравнение скорости превращения Т-2-токсина в НТ-2-токсин микросомами печени различных видов животных показало, что она максимальна у кролика и человека (соответственно 3044 и 331 нмоль/10 мин на 1 мг белка) и значительно ниже у других видов — мыши, цыпленка, крысы и морской свинки (соответственно 75; 55; 38 и 14 нмоль/10 мин на 1 мг белка). При этом микросомы печени кролика превращали в НТ-2-токсин до 40% исходного Т-2-токсина. Предполагают, что реакция С-4-деацетилирования Т-2-токсина катализируется микросомной неспецифической карбоксилэстеразой [Ohta M. et al., 1977].

В своих последующих исследованиях эти авторы изучили субстратную специфичность некоторых ТТМТ, используя в качестве источника карбоксилэстераз микросомы из печени кролика. Как видно из табл. 23, микросомная карбоксилэстераза атакует, как правило, ацетильный остаток при С-4; замещения в положении С-3 и С-8 в значительной степени влияют на гидролиз связи с ацетильным остатком в положении С-4. В частности, фермент активен в отношении соединений, имеющих в положении С-3 гидроксильную группу (Т-2-токсин, диацетоксискирпенол, фузаренон-Х, 4,15-диацетилниваленол), но не гидролизует С-4-ацетильный остаток в ТТМТ, имеющих такую же ацетильную группу при С-3 (ацетил-Т-2-токсин, тетраацетилниваленол). ТТМТ, имеющие

Таблица 23. Субстратная специфичность микросомной карбоксилэстеразы по отношению к природным и химически модифицированным ТТМТ [Ohta et al., 1978]

Тип А   Тип В

Тип ТТМТ	ТТМТ-субстрат	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	ТТМТ-продукт	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	Скорость деацетилирования, нмоль/10 мин на 1 мг белка
А	Диацетоксискирпенол	OH	OAc	OAc	H	H	Моноацетоксискирпенол	OH	OH	OAc	H	H	405
	Триацетоксискирпенол	OAc	OAc	OAc	H	H	Два неидентифицированных ТТМТ						(60)*
	Неосоланиол	OH	OAc	OAc	H	OH	Не образуется						0
	Тетраацетоксискирпенол	OAc	OAc	OAc	H	OAc	8-Окситриацетоксискирпенол	OAc	OAc	OAc	H	OH	516
	НТ-2-токсин	OH	OH	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$	Не образуется						0
	Т-2-токсин	OH	OAc	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$	НТ-2-токсин	OH	OH	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$	3044
	3-Ацетил-Т-2-токсин	OAc	OAc	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$	Не образуется						0

В	Ниваленол	OH	OH	OH	OH		То же						—
	Фузаренон-Х	OH	OAc	OH	OH		Ниваленол	OH	OH	OH	OH		251
	4,15-Диацетилниваленол	OH	OAc	OAc	OH		15-Ацетилниваленол	OH	OH	OAc	OH		38
	Тетраацетилниваленол	OAc	OAc	OAc	OAc		Не образуется						0
	3-Ацетилдезоксиниваленол	OAc	H	OH	OH		Дезоксиниваленол	OH	H	OH	OH		26
	Дезоксиниваленол	OH	H	OH	OH		Не образуется						—

Примечание: Ac—$COCH_3$; * *скорость убыли субстрата.*

при С-8 ацильную группу (Т-2-токсин), -H_2 (диацетоксискирпенол) или -O (фузаренон-Х и 4,15-диацетилниваленол) легко подвергаются С-4-деацетилированию, а неосоланиол, содержащий при С-8 гидроксильную группу, несмотря на наличие гидроксила при С-3, не является субстратом для *карбоксилэстеразы*. Ацетильные остатки при С-3, С-15 и С-8 отличаются стабильностью к действию этого фермента. Исключение составляет лишь 3-ацетилдезоксиниваленол, в котором гидролизу подвергается ацетильный остаток при С-3, и тетраацетоксискирпенол в молекуле которого гидролизируется С-8-ацетильная группа. Микросомная карбоксилэстераза из печени кролика проявляет высокое сродство к Т-2-токсину, затем, в убывающем порядке, к тетраацетоксискирпенолу, диацетоксискирпенолу, фузаренону-Х, 4,15-диацетилниваленолу и 3-ацетилдезоксиниваленолу. В отличие от этого карбоксилэстераза из печени крысы проявляла большее сродство к ТТМТ типа В — фузаренону-Х > > диацетоксискирпенолу > 4,15-диацетилниваленолу [Ohta M. et al., 1978].

Особого внимания заслуживают данные T. Yoshizawa и соавт. (1983), обнаруживших в моче крыс линии Wistar после однократного введения вм внутрь дезоксиниваленола (вомитоксина) наряду с неизмененным токсином его деэпоксидированное производное — метаболит 3α,7α,15-тригидрокситрихотец-9,12-диен-8-он (схема 19). Этот метаболит, обозначенный как DOM-I, выявлен в экскрементах крыс, которым вводили дезоксиниваленол (в моче за 72 ч — 4,4%, в кале — 5,6% введенной дозы), а также в плазме крови и печени.

До настоящего времени остается невыясненным, может ли микросомная эпоксидгидролаза участвовать в обезвреживании ТТМТ, а также значение реакций конъюгации с SH-глутатионом,

UDP-глюкуроновой кислотой и другими соединениями, которые, как показано выше, играют существенную роль в детоксикации 2,3-эпоксида афлатоксина B_1. По данным Y. Ueno (1977) в условиях in vitro Т-2-токсин и фузаренон-Х проявляют слабо выраженные свойства конкурентных ингибиторов глутатионтрансферазы, что косвенно указывает на способность этих ТТМТ образовывать конъюгаты с SH-глутатионом. После внутрибрюшинного введения крысам Т-2-токсина в дозе 2,0 мг/кг в моче значительно (на 57%) увеличивалось содержание глюкуронидов, что позволяет сделать вывод о возможности экскреции Т-2-токсина или его метаболитов в виде глюкуроновых конъюгатов [Bamburg J., Strong F., 1971].

Схема 19.
Метаболизм дезоксиниваленола.

Дезоксиниваленол

3α 7α 15 Тригидрокситрихотец 9,12 диен 8 он

В наших исследованиях [Кравченко Л. В. и др., 1983, 1984а, б] были получены убедительные доказательства в пользу важной роли реакций конъюгации в детоксикации Т-2-токсина. Так, при дефиците белка в рационе, приводящего к резкому снижению концентрации SH-глутатиона и активности глутатионтрансферазы в печени, токсическое действие Т-2-токсина значительно усиливается. У крыс линии Wistar, получавших в течение 30 дней малобелковый рацион (4% белка, 18% в контроле) содержание SH-глутатиона в печени падало до 0,69 мг на 1 г ткани (2,54 мг/г в контроле). При этом резко (на 32%) снижалась и активность глутатионтрансферазы. Введение животным с белковой недостаточностью Т-2-токсина (внутрижелудочно в дозе 0,54 мг/кг) сопровождалось развитием выраженного токсикоза и гибелью 40% крыс, в то время как на фоне полноценного питания Т-2-токсин не вызывал даже клинических симптомов интоксикации. Интересно, что при сочетанном действии белковой недостаточности и Т-2-токсина уровень SH-глутатиона и активность глутатионтрансферазы снижались еще в большей степени (до 25,2% и 42,4% контроля).

Заслуживают внимания данные о влиянии гипервитаминоза А на проявления токсического действия Т-2-токсина [Кравченко Л. В. и др., 1984б]. Избыточное введение крысам линии Wistar витамина А (ежедневно в течение 7 дней внутрижелудочно из расчета 70 000 МЕ на 100 г массы тела) вызывало значительные нарушения активности ферментов второй фазы метаболизма

ксенобиотиков — резкое снижение активности микросомной UDP-глюкуронозилтрансферазы и локализованной в цитозоле глутатионтрансферазы (соответственно на 45 и 78% контроля). Одновременно в печени достоверно уменьшался уровень одного из эссенциальных компонентов реакций конъюгации чужеродных веществ — SH-глутатиона. Введение Т-2-токсина крысам с гипервитаминозом А сопровождалось значительным усилением токсического действия микотоксина, что проявлялось в более раннем развитии геморрагических явлений и резком увеличении смертности животных — до 50% (25% в группе контрольных животных, которым вводили внутрижелудочно только Т-2-токсин в дозе 3,0 мг/кг). Следует подчеркнуть, что при Т-2-микотоксикозе на фоне избыточного поступления витамина А в печени была резко снижена активность как UDP-глюкуронозилтрансферазы, так и глутатионтрансферазы. Эти исследования позволили впервые выявить выраженное влияние избытка витамина А на активность ключевых ферментов второй фазы метаболизма ксенобиотиков и получить дополнительные доказательства важности ферментативного процесса конъюгации Т-2-токсина (или его метаболитов) с SH-глутатионом и глюкуроновой кислотой в цепи реакций детоксикации этого микотоксина в организме.

Для расшифровки механизма детоксикации Т-2-токсина в организме принципиальное значение имеют данные о влиянии модификаторов ферментных систем печени, метаболизирующих ксенобиотики, на клиническую картину интоксикации (табл. 24).

Таблица 24. Влияние фенобарбитала, 20-метилхолантрена и $CoCl_2$ на некоторые показатели острого Т-2-токсикоза у крыс [Кравченко Л. В. и др., 1984а]

Показатель интоксикации	Группа животных				
	контроль	Т-2-токсин	фенобарбитал+ +Т-2-токсин	20-метилхолантрен+ +Т-2-токсин	$CoCl_2$+ +Т-2-токсин
Геморрагии (к 10-му часу)	0/10	6/20(30%)	7/15(47%)	4/15(27%)	5/14(35%)
Диарея (к 10-му часу)	0/10	9/20(45%)	0/15(0%)	6/15(40%)	5/14(35%)
Смертность (к 24-му часу)	0/10	6/20(30%)	0/15(0%)	2/15(13%)	1/14(7%)
Активность ферментов в сыворотке крови (к 24-му часу) *:					
β-N-ацетилглюкозаминидаза, нмоль/мин на 1 мл	24,33±±1,16	16,67±±1,50	24,17±±2,00	20,33±±1,00	22,33±±1,00
α-маннозидаза, нмоль/мин на 1 мл	3,79±±0,42	0,78±±0,11	1,76±±0,32	1,27±±0,24	1,19±±0,27
5'-Нуклеотидаза, мкмоль/мин на 1 мл	2,86±±0,19	0,71±±0,06	1,70±±0,24	1,10±±0,13	1,87±±0,27

* Средние данные ($X \pm S_{\bar{x}}$) из 7 опытов.

Интересно, что защитное действие оказывали как индукторы (фенобарбитал и 20-метилхолантрен), так и ингибитор (хлорид кобальта) синтеза ферментов первой фазы метаболизма ксенобиотиков (цитохром Р-450-гидроксилазная система). Однозначность эффекта этих модификаторов может быть объяснена с позиций их действия на ферменты второй фазы метаболизма ксенобиотиков — UDP-глюкуронозил- и глутатионтрансферазы. Обнаружено, в частности, что фенобарбитал индуцировал активность обоих этих ферментов (до 132 и 160% контроля); 20-метилхолантрен незначительно влиял на активность глутатионтрансферазы, но вызывал резкую (250% контроля) активацию UDP-глюкуронозилтрансферазы. Введение хлорида кобальта увеличивало в 2 раза уровень SH-глутатиона в печени и умеренно активировало UDP-глюкуронозилтрансферазу. Иными словами, все изученные модификаторы стимулировали активность UDP-глюкуронозилтрансферазы, катализирующей реакции конъюгации ксенобиотиков с глюкуроновой кислотой, и глутатионтрансферазы, ответственной за реакции конъюгации с SH-глутатионом — первой стадии синтеза меркаптуровых кислот. При этом следует особо подчеркнуть значение активации глутатионтрансферазы, которой отводят важную роль в детоксикации эпоксидных соединений. Это тем более важно, что токсические свойства Т-2-токсина связаны в первую очередь с наличием в структуре его молекулы эпоксидной группы. Заслуживает внимания выявленная корреляционная зависимость между выраженностью защитного эффекта и степенью активации глутатионтрансферазы: максимальной при сочетанном введении фенобарбитала и Т-2-токсина к минимальной при введении 20-метилхолантрена и Т-2-токсина [Кравченко Л. В. и др., 1984а].

Полученные результаты позволяют предположить, что защитное действие фенобарбитала и 20-метилхолантрена при остром Т-2-токсикозе обусловлено индукцией ферментов второй фазы метаболизма ксенобиотиков и прежде всего за счет усиления процессов конъюгации токсина или его метаболитов с SH-глутатионом. Что касается хлорида кобальта, то его защитное действие связано, по-видимому, с увеличением доступности для глутатионтрансферазы кофактора, синтез которого повышается под действием двухвалентных металлов, включая кобальт. В то же время следует учитывать и возможность активации этими модификаторами других путей детоксикации Т-2-токсина, в частности, образования при участии микросомной эпоксидгидролазы соответствующего гликоля (8-изовалерокси-4,15-ацетоксиэтрихотец-9-ен-3,12, 13-триол) или превращения Т-2-токсина в менее токсичный НТ-2-токсин при участии карбоксилэстеразы.

В пользу предположения о важности глутатионтрансферазного пути детоксикации Т-2-токсина свидетельствуют и полученные нами данные о различиях в активности этого фермента в печени животных, отличающихся по чувствительности к Т-2-токсину. У самцов-крыс линии Wistar, более чувствительных к действию Т-2-токсина, чем самцов-мышей CBA×C57BL/6 (LD_{50} Т-2-токсина

при однократном внутрижелудочном введении соответственно 3 и 6,75 мг на 1 кг массы тела), содержание SH-глутатиона в печени и активность глутатионтрансферазы были значительно ниже, чем у мышей (соответственно 2,3 против 3,1 мг на 1 г ткани и 2 против 7 мкмоль/мин на 1 мг белка цитозоля). Примечательно, что активность UDP-глюкуроноацилтрансферазы в печени обоих видов животных была одинаковой.

Таким образом, можно предположить, что в метаболизме Т-2-токсина и, по-видимому, других ТТМТ важное значение имеют реакции деацетилирования, гидроксилирования и конъюгации.

▲ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

При расшифровке механизма действия ТТМТ основное внимание исследователей было сконцентрировано на изучении их влияния на биосинтез макромолекул. Однако, как свидетельствуют результаты работ последних лет, принципиальное значение для понимания биохимических механизмов действия ТТМТ имеют данные об их влиянии на другие метаболические процессы, а также структурные и функциональные свойства клеточных мембран.

Влияние на обмен нуклеиновых кислот и белка. Результаты многочисленных исследований in vitro и in vivo показывают, что ТТМТ являются ингибиторами синтеза белка и нуклеиновых кислот.

Впервые подавляющее действие ТТМТ (в частности, ниваленола) на белковый синтез наблюдали Y. Ueno и соавт (1968) в опытах на ретикулоцитах кролика и в бесклеточной белоксинтезирующей системе (рибосомы печени крысы). При этом не было обнаружено какого-либо действия ниваленола на активность аминоацил-тРНК-синтетазы, вследствие чего авторы предположили, что ингибирующее действие токсина — следствие нарушения функций самих рибосом. Этой же группой авторов было показано, что Т-2-токсин, диацетоксискирпенол, неосоланиол, ниваленол и фузаренон-Х подавляют синтез полифенилаланина в бесклеточной белоксинтезирующей системе [Ueno Y., 1971; Ueno Y. et al., 1973]. Обращает на себя внимание тот факт, что эти ТТМТ (Т-2-токсин, диацетоксискирпенол, неосоланиол и фузаренон-Х) вызывают быструю дезагрегацию полисом в культуре фибробластов мыши и ретикулоцитов кролика [Saito M., Ohtsuba K., 1974]. Эти данные получили подтверждение в более поздних исследованиях K. Terao (1983). Изучая действие Т-2-токсина, ниваленола и фузаренона-Х на ультраструктуру различных клеток пролиферирующего типа у мышей, кроликов и цыплят, он пришел к выводу, что именно полисомы являются основными органеллами клетки, на которые направлено действие ТТМТ. Все чувствительные к ТТМТ клетки (ретикулоциты, незрелые клетки эритроцитарного ряда и эпителия кишечника, лимфобласты, гепатоциты плодов, клетки фабрициевой сумки цыплят) отличались наличием боль-

шого числа дезагрегированных полисом на ранних стадиях воздействия токсинами, в то время как диссоциации полисом не наблюдали в мало чувствительных к ТТМТ гепатоцитах взрослых животных, звездчатых ретикулоэндотелиоцитах, зрелом эпителии кишечника и др.

В опытах с меченым ^{3}[H] ТТМТ (Т-2-токсином, фузареноном-Х и трихолермином) было показано, что они связываются с полисомами и рибосомами (особенно функционально активными и в меньшей степени с 60S- и 40S-субъединицами) клеток эукариот [Wei C. et al., 1974; Ueno Y., 1977]. При этом, как полагают, особое значение имеет взаимодействие ТТМТ с 60S-субъединицами рибосом, так как именно с ними связана пептидил-трансферазная активность.

В зависимости от характера действия на рибосомный аппарат ТТМТ условно делят на две группы: подавляющие инициацию трансляции и подавляющие элонгацию и терминацию синтеза полипептидной цепи [Cundliffe E. et al., 1974; Wei C. et al., 1974; Cannon M. et al., 1976]. Установлена определенная корреляция между степенью общей токсичности, цитотоксическими свойствами ТТМТ и типом нарушения процесса трансляции (табл. 25). ТТМТ, подавляющие инициацию трансляции, обладают более выраженными токсическими свойствами, чем микотоксины, влияющие на более поздние стадии белкового синтеза на рибосомах. Ингибирующее действие различных ТТМТ на биосинтез белка доказано и на других модельных системах: культурах нормальных и опухолевых клеток печени, альвеолярных макрофагах, лимфоидных клетках, на клетках простейших и дрожжей [Ueno Y., 1977, 1983; Hernandez F., Cannon M., 1982; Rosenstein Y., Lafarge-Frayssinet C., 1983; Gerberick G. et al., 1984]. Необходимо подчеркнуть, что, как правило, наряду с подавлением белкового синтеза в этих экспериментах наблюдали и угнетение синтеза ДНК.

Получены данные о действии ТТМТ на биосинтез белка и нуклеиновых кислот у различных видов животных в опытах in vivo. Введение Т-2-токсина крысам внутрь в дозе 1,5 мг/кг в течение 4 дней приводило к снижению на 15% включения ^{14}[C]-лейцина в белки клеток печени и слизистой оболочки кишечника [Suneja S. et al., 1983]. Значительно более серьезные нарушения биосинтеза макромолекул наблюдали в опытах на мышах линии Swiss, которым Т-2-токсин вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 0,75 мг/кг. Уже через 8 ч в печени, вилочковой железе, селезенке и костном мозге синтез ДНК и белка был подавлен на 80%. К 20-му часу этот процесс в печени полностью восстанавливался, но оставался ниже контрольного уровня в других органах. При более длительном введении Т-2-токсина (7 дней) синтез ДНК в вилочковой железе, селезенке и костном мозге был снижен на 56—66%, а в печени несколько превышал контрольный уровень. Синтез белка в печени к этому сроку подавлялся на 35%, а в остальных органах — на 72—89% [Rosenstein Y., Lafarge-Frayssinet C., 1983]. Следует отметить, что к ингибиру-

Таблица 25. Взаимосвязь между степенью токсичности ТТМТ и вызванным ими типом нарушения процесса биосинтеза белка [по Cannon M. et al., 1976; Ueno Y., 1983]

Тип ТТМТ	Микотоксин	LD_{50} мкг/мл для ретикулоцитов кролика	Тип нарушения трансляции
A	Т-2-токсин	0,03	Инициация
	НТ-2-токсин	0,03	То же
	Диацетоксискирпенол	0,03	» »
	7-Оксидиацетоксискирпенол	0,4	—
	7,8-Диоксидиацетоксискирпенол	0,6	—
	Неосоланиол	0,25	—
	Моноацетоксискирпенол	—	Инициация
	Триходермин	—	Элонгация, терминация
	Калонектрин	5	Инициация
	15-Диацетилкалонектрин	20	Элонгация, терминация
	Трихотекол	20	То же
	Триходермол	—	» »
	Веррукарол	7	» »
B	Ниваленол	3	Инициация
	Фузаренон-Х	0,25	То же
	Дезоксиниваленол	2	Элонгация, терминация
	3-Ацетилдезоксиниваленол	10	—
	Трихотецин	0,15	Элонгация, терминация
C	Роридин А	0,01	—
	Роридин Н	—	Инициация
	Веррукарин А	0,01	То же
	Веррукарин J	—	» »
D	Кротоцин	1	Элонгация, терминация

ющему действию Т-2-токсина синтез макромолекул в лимфоидных органах более чувствителен, чем в печени.

В исследованиях in vitro также была показана высокая чувствительность лимфоидных клеток к токсическому действию Т-2-токсина. Так, в клетках LF из первичной гепатомы крысы этот токсин в концентрации 0,25 нг/мл подавлял синтез ДНК и белка соответственно на 11% и 5%, а в лимфоцитах из селезенки мыши, стимулированных фитогемагглютинином, — на 73% и 14% [Rosenstein Y., Lafargo-Frayssinet C., 1983]. C. Lafarge-Frayssinet и соавт. (1981) обнаружили, что Т-2-токсин как in vivo, так и in vitro индуцирует повреждения молекулы ДНК в лимфоцитах селезенки и вилочковой железы, но не действует на ДНК гепатоцитов. Близкие результаты были получены при изучении влияния других ТТМТ, диацетоксискирпенола, триходермина, верру-

карина и роридина, на различные типы клеток: LF, VA-13 (трансформированные клетки легкого человека), лимфоциты из селезенки мыши [Robbana-Barnat S. et al., 1982]. Обращает на себя внимание, что лимфоциты значительно более чувствительны к действию ТТМТ типа А, в то время как клетки LF и VA-13 отличались большей чувствительностью к макроциклическим ТТМТ. Чувствительность трансформированных злокачественных клеток также оказалась выше, чем у нормальных: ID_{50} Т-2-токсина составляет для нормальных гепатоцитов более 5 нг/мл, а для клеток LF — 0,5 нг/мл; для нормальных лимфоцитов — 0,5 нг/мл, а для лимфоцитов из селезенки мышей с лейкозом — всего 0,1 нг/мл.

Чем же объясняется бо́льшая чувствительность лимфоидных клеток к токсическому действию ТТМТ, обнаруживаемая как in vitro, так и in vivo? Это может быть связано, во-первых, с низкой активностью ферментных систем детоксикации чужеродных веществ и, во-вторых, с наличием на поверхности этих клеток специфических для ТТМТ рецепторов [Lafarge-Frayssinet C. et al., 1981; Rosenstein Y., Lafarge-Frayssinet C., 1983]. Подавление синтеза ДНК и белка под действием Т-2- и НТ-2-токсина, Т-2-тетраола наблюдалось в культуре фибробластов человека [Agrelo C., Schoental R., 1980; Oldham J. et al., 1980]. Интересно, что ингибирующее действие Т-2-токсина было значительно более сильным, чем НТ-2-токсина и Т-2-тетраола. Ультраструктурные изменения в фибробластах при этом характеризовались нарушением целостности ядерных оболочек и неравномерным распределением хроматина в ядрах, гипоплазией эндоплазматического ретикулума и пластинчатого комплекса, уменьшением числа рибосом, связанных с эндоплазматическими мембранами.

В экспериментах на простейших (Tetrahymena pyriformis) ТТМТ, такие как Т-2-токсин и фузаренон-Х, подавляли синтез белка, ДНК и РНК [Ueno Y., Yamakawa H., 1970]. Однако в разрушенных клетках и ядрах, выделенных из клеток, обработанных Т-2-токсином, не наблюдали подавления синтеза нуклеиновых кислот. Необходимо отметить, что аналогичное действие на синтез макромолекул у простейших оказывает хетоглобозин А, который, связываясь с тубулином, ингибирует функциональную активность мембранных компонентов [Iwahashi T. et al., 1982]. Сопоставляя эти данные, можно предположить, что подавление ТТМТ синтеза нуклеиновых кислот у T. pyriformis связано с изменением структурных и функциональных свойств клеточных мембран. E. Morel-Chany и соавт. (1981) на основании изучения цитотоксического действия Т-2-токсина на различные линии эпителиальных клеток из печени крыс также пришли к заключению о том, что ДНК является мишенью для Т-2-токсина только в клетках лимфоидной ткани, в то время как в клетках печени его токсическое действие в большей степени обусловлено изменением свойств клеточных мембран. Аналогичный вывод делают K. Schappert и G. Khachatourians (1984).

Сведения о влиянии ТТМТ на ферменты синтеза ДНК малочислены. Не обнаружено какого-либо действия ниваленола на активность ДНК-полимеразы и тимидинкиназы в клетках асцитной опухоли Эрлиха, а также фузаренона-Х — на активность ДНК-полимеразы фибробластов мыши [Saito M., Ohtsubo K., 1974]. В то же время в клетках линии $Molt_4$ (предположительно Т-клеточной линии из периферической крови больного лимфобластическим лейкозом) и Nu_6 (из лимфомы вилочковой железы мыши) Т-2-токсин в концентрации более 1 нг/мл значительно подавлял синтез ДНК, что сопровождалось резким снижением активности ДНК-полимеразы α и терминальной дезоксинуклеотидил-трансферазы в клетках $Molt_4$ и падением активности ДНК полимераз-α и -β, тимидинкиназы и терминальной дезоксинуклеотидил-трансферазы в клетках Nu_6 [Munsch N., Müller E., 1980].

Влияние на другие метаболические процессы. Некоторые авторы предполагают, что наблюдаемые в ряде случаев при интоксикации ТТМТ гиподинамия, гипотермия, тахикардия являются следствием нарушения энергетического обмена. Однако это предположение не получило достаточных экспериментальных доказательств. M. Saito и K. Okuba (1970) и T. Shimizu и соавт. (1979) обнаружили достоверное уменьшение количества гликогена в печени мышей при введении им ТТМТ, продуцируемых F. nivale. В частности, при однократном внутрибрюшинном введении 60 мкг фузаренона-Х через 2 ч количество гликогена заметно уменьшалось, а через 3 ч гликоген полностью исчезал. При внутривенном введении диацетоксискирпенола гликоген в печени не выявлялся через 6 ч. У мышей, получавших фузаренон-Х, через 1 ч обнаружено снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови, которое сохранялось в течение 4 ч. Полагают, что выявленная в этих опытах гипогликемия является результатом либо нарушения всасывания глюкозы, либо усиления гликолиза. Действительно, позднее S. Suneja и соавт. (1984) наблюдали, что введение внутрь крысам Т-2-токсина в дозе 1,5 мг/кг ежедневно в течение 4 дней приводило к значительному (на 73%) снижению скорости всасывания глюкозы, а также триптофана (на 67%) в тонкой кишке. При этом было обнаружено выраженное уменьшение активности некоторых ферментов в слизистой оболочке кишечника: сахарозо-α-глюкогидролазы (на 76%), β-галактозидазы (на 30%) и Na^+, K^+-стимулируемой АТФазы (на 20%).

C. Schuller и B. Yagen (1981) и J. Pace (1983) показали, что ТТМТ (Т-2-токсин, Т-2-тетраол) in vitro изменяют функциональную активность митохондрий и блокируют перенос электронов на уровне участка I электронно-транспортной цепи.

Существенную роль в механизме токсического действия ТТМТ может играть их способность взаимодействовать с SH-группами активных центров ферментных белков, что было показано в опытах in vitro [Ueno Y., Matsumoto H., 1975]. Инкубация мышечной креатинкиназы, лактатдегидрогеназы и дрожжевой алкогольдегидрогеназы с фузареноном-Х, неосоланиолом и Т-2-токсином

приводила к значительному или даже полному подавлению ферментной активности. Предварительная инкубация фузаренона-Х с дитиотреитолом предотвращала его ингибирующее действие на активность алкогольдегидрогеназы. Обнаружено также, что Т-2-токсин, диацетоксисцирпенол, веррукарин А и роридин А в концентрации $10^{-2}-10^{-3}$ мг/мл подавляют активность неспецифической дегидрогеназы Saccharomyces cerevisiae, возможно, за счет взаимодействия с тиоловыми группами активного центра фермента [Reiss J., 1983].

Влияние на структурные и функциональные свойства клеточных органелл. Одним лишь ингибированием белкового синтеза невозможно объяснить все проявления токсического действия ТТМТ. Анализируя данные токсикологических и морфологических исследований, можно предположить, что одним из компонентов механизма биохимического действия ТТМТ является их взаимодействие с биологическими мембранами. В связи с этим нами были проведены систематические исследования, направленные на изучение in vivo и in vitro влияния некоторых фузариотоксинов на активность ферментов и свойства мембран органелл различных типов клеток. Первая серия экспериментов была проведена со спорофузарином — токсином, выделенным Л. Е. Олифсоном (1957, 1965) из проса, зараженного токсигенным штаммом F. sporotrichiella. В качестве основного методического приема использовали определение общей и неседиментируемой активности маркерных ферментов митохондрий, лизосом, эндоплазматического ретикулума и плазматических мембран в печени, почках, а также кроветворных органах (селезенке и костном мозге), которые, как уже отмечалось, являются органами-мишенями для фузариотоксинов.

При введении внутрибрюшинно крысам линии Wistar спорофузарина в дозе 75 мг/кг, вызывающей сильную интоксикацию и гибель 50% животных в течение 48 ч, наблюдались характерные симптомы: вздутие и кровоизлияния в области тонкого кишечника, выпот в брюшной полости, резкое уменьшение массы селезенки (почти в 3 раза по сравнению с контролем). Как видно из рис. 3, в почках не выявлено существенных изменений общей активности изученных ферментов; в печени активность большинства ферментов лизосом проявляла тенденцию к снижению, в то время как в селезенке и костном мозге отмечалась резкая активация лизосомных гидролаз. Так, в селезенке значительно возрастала активность группы гликозидаз (до 213—244% контрольного уровня), арилсульфатаз А и В (до 242%), кислых РНКазы и ДНКазы (соответственно до 202 и 205%). В ткани костного мозга на фоне значительного (почти в 2 раза) увеличения активности большинства лизосомных ферментов особенно возрастала активность β-глюкозидазы (до 563%) и β-глюкуронидазы (365%).

При характеристике изменений стабильности мембран субклеточных структур при интоксикации спорофузарином также обращает на себя внимание выраженная органо- и органеллотропность

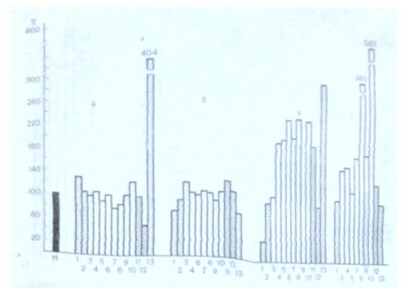


Рис. 3. Изменение активности органеллоспецифических ферментов печени (а), почек (б), селезенки (в) и костного мозга (г) крыс при воздействии микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) [Покровский А. А. и др., 1976а, б].

К — контроль; 1 — цитохромоксидаза; 2 — малатдегидрогеназа; 3 — кислая фосфатаза; 4 — кислая РНКаза; 5 — кислая ДНКаза; 6 — арилсульфатазы А и В; 7 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 8 — β-глюкуронидаза; 9 — β-галактозидаза; 10 — β-глюкозидаза; 11 — глюкозо-6-фосфатаза; 12 — ацетилэстераза; 13 — щелочная фосфатаза. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

этого микотоксина (рис. 4). Действительно, если в печени и почках лабилизирующее действие спорофузарина было выражено незначительно, то в ткани селезенки и особенно костного мозга наблюдалось резкое увеличение неседиментируемой активности главным образом лизосомных ферментов, причем в костном мозге неседиментируемая активность некоторых гидролаз превышала контрольный уровень в 3—7 раз. Последнее несомненно указывает на нарушение стабильности мембран лизосом стволовых клеток костного мозга при интоксикации спорофузарином. Интересно отметить, что при этой интоксикации, по-видимому, нарушалась и стабильность плазматических мембран, что выражалось в достоверном увеличении активности ряда лизосомных ферментов в сыворотке крови (рис. 5).

Таким образом, в исследованиях in vivo удалось обнаружить, что спорофузарин вызывает, во-первых, активацию главным образом ферментов лизосом, и, во-вторых, резкое нарушение стабильности преимущественно лизосомных мембран. При этом выявленные изменения наиболее значительны в кроветворных органах. Что касается ферментов других субклеточных структур, то изменения их активности носили разнонаправленный характер и в отличие от лизосомных ферментов не были связаны только с



Рис. 4. Изменение неседиментируемой активности органеллоспецифических ферментов печени (а), почек (б), селезенки (в) и костного мозга (г) крыс при воздействии микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) [Покровский А. А. и др., 1976а, б].

К — контроль; 1 — малатдегидрогеназа; 2 — кислая фосфатаза; 3 — кислая ДНКаза; 4 — арилсульфатазы А и В; 5 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 6 — β-глюкуронидаза; 7 — β-галактозидаза; 8 — ацетилэстераза. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

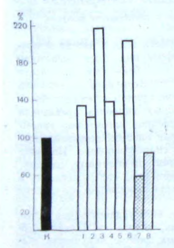


Рис. 5. Изменение активности органеллоспецифических ферментов в сыворотке крови крыс при воздействии микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) [Покровский А. А. и др., 1976а, б].

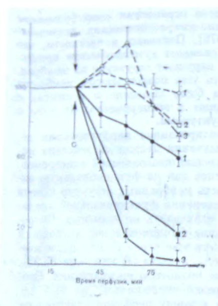
К — контроль; 1 — кислая фосфатаза; 2 — кислая РНКаза; 3 — кислая ДНКаза; 4 — арилсульфатазы А и В; 5 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 6 — β-галактозидаза; 7 — ацетилэстераза; 8 — щелочная фосфатаза. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

кроветворными органами. По-видимому это можно расценить как следствие неспецифической реакции на острую интоксикацию [Покровский А. А. и др., 1976]. Полученные биохимические данные о важной роли активации лизосомного аппарата и лабилиза-

ции мембран лизосом в патогенезе отравления спорофузарином были подтверждены в электронно-микроскопических исследованиях [Морозов И. А. и др., 1976]. Показано, в частности, что спорофузарин в клетках резко усиливает аутофагические процессы, увеличивает число лизосом и нарушает структуру их мембран. Обнаруженное в экспериментах in vivo повреждающее мембраны лизосом действие спорофузарина было выявлено и в опытах с изолированными органами, а также в экспериментах in vitro с выделенными субклеточными структурами.

Следует подчеркнуть, что изолированная перфузируемая печень крыс, использованная для изучения механизма действия микотоксинов, является удобной моделью, позволяющей одновременно регистрировать влияние токсинов как на функциональную активность органа, так и стабильность мембранных структур клетки (рис. 6). Из рис. 6 видно, что изменения функциональной активности в контроле незначительно отличались от исходных. Спорофузарин вызывал резкое подавление функциональной активности печени. Скорость образования желчи уже через 15 мин после введения токсина снижалась на 42,8%, а через 30 мин — на 83,9%. К концу 1-го часа желчеотделение полностью прекращалось. Скорость синтеза мочевины также резко уменьшалась (на 84% через 1 ч). Потребление кислорода к концу перфузии значительно падало и составляло 58,2% исходного уровня. Необходимо отметить, что спорофузарин и в этих условиях вызывал значительное нарушение стабильности лизосомных мембран, что проявлялось в увеличении в $1^1/_2-2$ раза неседиментируемой активности лизосомных ферментов.

Для изучения влияния спорофузарина на проницаемость гистогематического барьера активность ферментов определяли в перфузате (рис. 7). Как видно из рис. 7, спорофузарин вызывал значительный и ранний выход ферментов в перфузат. Уже через 15 мин после его введения активность β-N-ацетилглюкозаминидазы в перфузате в 20 раз превышала исходный уровень. Меньше возрастала в перфузате активность β-глюкуронидазы (в 8 раз), арилсульфатаз А и В (в $5^1/_2$ раза) и β-галактозидазы (в 3 раза). Не было обнаружено достоверного изменения активности лишь мембраносвязанного фермента лизосом — β-глюкозидазы. Интересно, что повреждающее мембраны действие спорофузарина по времени проявлялось раньше, чем его влияние на функциональную активность органа. Поэтому можно предположить, что подавление функциональной активности печени под влиянием этого токсина является результатом нарушения структурных свойств мембранных образований клетки и в первую очередь лизосом. Важно также подчеркнуть, что в опытах с изолированной перфузируемой печенью повреждающее мембраны действие спорофузарина проявлялось при концентрации значительно меньше расчетной, которая может быть в крови крыс при введении им токсина в дозе, вызывающей острую интоксикацию ($5{,}9\cdot10^{-5}$ М, против $3\cdot10^{-4}$ М) [Покровский А. А. и др., 1975].



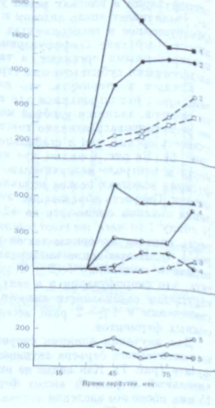


Рис. 6. Влияние микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) на функциональную активность изолированной перфузируемой печени крыс [Покровский А. А. и др., 1975, 1976б].

1 — скорость потребления кислорода; 2 — скорость синтеза мочевины; 3 — скорость желчеобразования; пунктирная линия — контроль (изотонический раствор хлорида натрия — ИР); сплошная линия — опыт (спорофузарин—С). По оси ординат — функциональная активность в процентах от исходной.

Рис. 7. Влияние микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) на выход в перфузат лизосомных ферментов изолированной печени крыс [Покровский А. А. и др., 1975, 1976б].

1 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 2 — β-глюкуронидаза; 3 — арилсульфатазы А и В; 4 — β-галактозидаза; 5 — β-глюкозидаза; пунктирная линия — контроль (изотонический раствор хлорида натрия), сплошная линия — опыт (спорофузарин). По оси ординат — активность ферментов в процентах от исходной.

Мы также изучили влияние низких концентраций спорофузарина in vitro на стабильность мембран митохондрий, лизосом и эндоплазматического ретикулума, выделенных из печени и селезенки крыс. Из рис. 8 видно, что особенно резко солюбилизирующее действие токсина проявлялось в отношении лизосомных ферментов печени. Уже в концентрации $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ М он приводил к достоверному повышению неседиментируемой активности почти всех изученных ферментов. При концентрации $1{,}6 \cdot 10^{-4}$ М неседиментируемая активность арилсульфатаз А и В примерно в 13 раз превышала этот показатель в контроле и составляла 82,8% общей активности фермента в исходной суспензии лизосом; неседиментируемая активность β-N-ацетилглюкозаминидазы превыша-

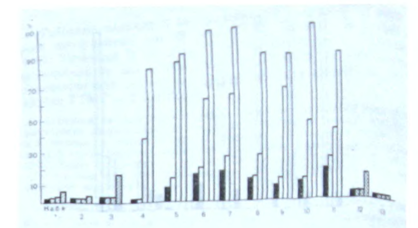


Рис. 8. Влияние in vitro различных концентраций микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) на неседиментируемую активность органеллоспецифических ферментов выделенных митохондрий, лизосом и микросом печени крыс [Покровский А. А. и др., 1975, 1976б].

1 — сукцинатдегидрогеназа; 2 — цитохромоксидаза; 3 — малатдегидрогеназа; 4 — кислая РНКаза; 5 — арилсульфатазы А и В; 6 — β-глюкуронидаза; 7 — β-галактозидаза; 8 — β-глюкозидаза; 9 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 10 — α-галактозидаза; 11 — α-маннозидаза; 12 — ацетилэстераза; 13 — глюкозо-6-фосфатаза; К — контроль; конечная концентрация спорофузарина в пробе: а — $1,6 \cdot 10^{-5}$ М; б — $1,6 \cdot 10^{-4}$ М; в — $1,6 \cdot 10^{-3}$ М. По оси ординат — активность ферментов в процентах от общей активности.

ла контрольный уровень в 10 раз (63,6% общей активности), а β-глюкуронидазы, α- и β-галактозидазы — в 4—5 раз (соответственно 59,2; 44,3 и 62,5% общей активности). При максимальной концентрации спорофузарина ($1,6 \cdot 10^{-3}$ М), которая соответствует дозе яда, вызывающей гибель крыс в течение первых 10—12 ч, наблюдался полный выход в надосадочную жидкость большинства ферментов лизосомного матрикса (β-глюкуронидазы, β-галактозидазы, арилсульфатаз А и В) и почти полное освобождение β-глюкозидазы. Солюбилизирующее действие спорофузарина проявлялось в неодинаковой степени в отношении различных структур клетки. Наиболее резкое нарушение стабильности было отмечено при действии на лизосомы, тогда как влияние на митохондрии и микросомы было значительно менее выраженным. Последнее свидетельствует об особой чувствительности мембран лизосом к действию токсина и лизосомотропности самого спорофузарина [Покровский А. А. и др., 1974, 1975а]. Изучение изменений неседиментируемой активности кислых гидролаз после инкубации со спорофузарином суспензии лизосом, выделенных из селезенки крыс, показало, что токсин в тех же концентрациях оказывает сильное мембраноповреждающее действие, вызывая выход в надосадочную жидкость большинства ферментов (рис. 9) [Покровский А. А. и др., 1976].

Таким образом, мы выявили различную резистентность отдельных субклеточных структур к действию спорофузарина. При

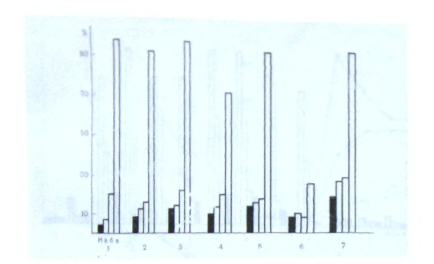


Рис. 9. Влияние in vitro различных концентраций микотоксина Fusarium sporotrichiella (спорофузарина) на неседиментируемую активность ферментов выделенных лизосом селезенки крыс [Покровский А. А. и др., 1976б].

1 — кислая РНКаза; 2 — кислая ДНКаза; 3 — β-глюкуронидаза; 4 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 5 — β-галактозидаза; 6 — β-глюкозидаза; 7 — α-маннозидаза; К — контроль; конечная концентрация спорофузарина — см. подпись к рис. 8. По оси ординат — то же, что и на рис. 8.

этом установлено, что особо высокой чувствительностью обладают лизосомные мембраны. Повреждающее лизосомы действие этого микотоксина было последовательно доказано в опытах с отравленными животными, изолированной перфузируемой печенью и клеточными органеллами. Вызванное спорофузарином повреждение лизосом было наиболее выражено в кроветворных органах, что находится в определенном соответствии с локализацией патологического процесса при отравлении. Полученные результаты свидетельствуют о возможном значении ранее не изученного компонента механизма токсического действия фузариотоксинов — их повреждающее действие на мембраны субклеточных структур и прежде всего на мембраны лизосом. Этот факт не может не привлечь внимания токсикологов и клиницистов, поскольку некоторые клинические и морфологические проявления спорофузариновой интоксикации могут быть объяснены вовлечением в патологический процесс лизосом. Обнаруживаемые при отравлении F. sporotrichiella обширные дегенеративные и некротические изменения тканей, усиление фагоцитарной активности лейкоцитов, увеличение концентрации в сыворотке крови лизоцима наблюдались и при действии различных лабилизаторов лизосомных мембран [Покровский А. А., Тутельян В. А., 1976]. Несомненно, выявленный факт избирательного повреждающего действия спорофузарина на лизосомы может расцениваться как принципиально новый феномен, имеющий прямое отношение к характеристике специфического действия этого микотоксина.

Работами последних лет доказано, что F. sporotrichiella является продуцентом прежде всего ТТМТ [Билай В. И. и соавт., 1983; Тутельян В. А. и др., 1984а, б]. Поэтому во второй серии экспериментов мы сконцентрировали внимание на ферментной характеристике острого и подострого действия основного представителя ТТМТ — Т-2-токсина.

В первом из этой серии экспериментов мы изучали динамику изменения активности органеллоспецифических ферментов печени, селезенки, вилочковой железы, а также сыворотки крови крыс, получавших в течение 7–28 дней зерно (пшено), зараженное токсигенным штаммом F. sporotrichiella 53315. Зерно содержало в 1 кг: 3,05 г Т-2-токсина, 0,14 г НТ-2-токсина, 0,05 г NT-1-токсина, по 0,03 г неосоланиола и Т-2-триола. В расчете на Т-2 токсин животные получали 1/4 LD_{50}.

Первые клинические симптомы интоксикации появлялись уже на 2-й день и выражались в адинамии, диарее, воспалении слизистых оболочек носа с выделением кровянистого экссудата, резком уменьшении абсолютной и относительной массы вилочковой железы, селезенки и увеличении относительной массы печени. Как видно из рис. 10, алиментарный токсикоз у крыс сопровождался значительными изменениями ферментного спектра особенно органов, участвующих в кроветворении и иммуногенезе. В печени это проявлялось в умеренном снижении активности некоторых лизосомных гидролаз, в селезенке, вилочковой железе и костном мозге — возрастании активности большинства изученных ферментов. По-видимому, обнаруженное уменьшение содержания белка во всех органах, снижение активности лизосомных ферментов в сыворотке крови, а также подавление в печени активности α-маннозидазы и β-N-ацетилглюкозаминидазы, отличающихся высокой скоростью обновления, являются следствием ингибирующего действия на биосинтез белка ТТМТ, продуцируемых F. sporotrichiella. Снижение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови при одновременном ее повышении во всех исследованных органах можно объяснить высокой чувствительностью к повреждающему действию ТТМТ эпителия тонкой кишки, который является одним из основных источников щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Активация большинства лизосомных ферментов в селезенке, вилочковой железе и костном мозге связана, вероятно, с процессами деструкции и атрофии этих органов, и напоминает картину, наблюдаемую при интоксикации спорофузарином.

В дальнейшем было изучено влияние острой интоксикации Т-2-токсином на активность органеллоспецифических ферментов печени, селезенки, вилочковой железы и сыворотки крови крыс, а также на ультраструктуру этих органов. Введение крысам Т-2-токсина (однократно внутрижелудочно в дозе 3,8 мг/кг) вызывало развитие характерной клинической картины отравления: адинамия, диарея, выделение кровянистого экссудата из полости носа, уменьшение более чем в 2 раза абсолютной и относительной массы вилочковой железы, увеличение относительной массы печени. Изучение динамики изменения активности маркерных фер-

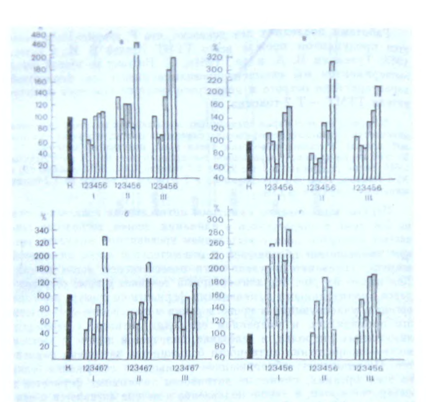


Рис. 10. Изменение активности органеллоспецифических ферментов печени (а), сыворотки крови (б), селезенки (в) и вилочковой железы (г) крыс, получавших зерно, зараженное Fusarium sporotrichiella [Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., 1984].

1 — β-галактозидаза; 2 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 3 — α-маннозидаза; 4 — арилсульфатазы А и В; 5 — сукцинатдегидрогеназа; 6 — щелочная фосфатаза; 7 — фруктозобисфосфат-альдолаза; К — контроль; I — 7-й день; II — 18-й день; III — 28-й день. Доверительные границы рассчитаны как mt для P=0,05. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

ментов субклеточных структур выявило существенные различия в поведении ферментов в органах (рис. 11). В печени уже в первые часы интоксикации наблюдалось снижение активности всех изученных лизосомных гидролаз, а также сукцинатдегидрогеназы. Затем (12 и 24 ч) активность этих ферментов продолжала падать (до 30—54% контрольного уровня), в то время как активность глюкозо-6-фосфатазы и 5′-нуклеотидазы практически не отличалась от таковой в контроле (рис. 11, а). В селезенке (рис. 11, б) наблюдалась ранняя (через 3 ч) и резкая избирательная активация лизосомных гидролаз, особенно β-глюкозидазы (210%). В более поздние сроки наблюдения активность лизосомных ферментов также быстро снижалась. Значительный интерес представляет характер изменения ферментной активности в ткани вилочковой железы (рис. 11, в). С первых же часов после введе-

Рис. 11. Изменение активности органеллоспецифических ферментов (печени (а), селезенки (б) и вилочковой железы (в) крыс в различные сроки после введения Т-2-токсина [Кравченко Л. В. и др., 1983а, б].

К — контроль; 1 — β-глюкозидаза; 2 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 3 — кислая РНКаза; 4 — сукцинатдегидрогеназа; 5 — глюкозо-6-фосфатаза; 6 — 5′-нуклеотидаза; 7 — белок. Доверительные границы рассчитаны как 2mt для P=0,05. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

ния Т-2-токсина наблюдалась умеренная активация β-N-ацетилглюкозаминидазы, кислой РНКазы, а также сукцинатдегидрогеназы (110—144%), на фоне достоверного снижения активности мембраносвязанных β-глюкозидазы и 5′-нуклеотидазы. Важно обратить внимание на резкий подъем активности всех изученных ферментов в конечной стадии эксперимента (72 ч), совпадающий по времени с процессом интенсивной инволюции органа, а также на достоверное снижение при Т-2-токсикозе содержания общего белка во всех органах и на всех сроках эксперимента.

Полученные биохимические данные было интересно сравнить с результатами параллельных электронно-микроскопических исследований. В печени Т-2-токсин вызывал постепенно нарастающие повреждения белоксинтезирующего аппарата гепатоцитов: деструкцию мембран шероховатого эндоплазматического ретикулума и уменьшение числа рибосом, сопровождавшееся прогрессирующим снижением активности большинства изученных ферментов. В селезенке действие Т-2-токсина характеризовалось резким и ранним нарушением ультраструктурной организации практически всех мембранных образований клеток и одновременной активацией лизосомной системы. В вилочковой железе динамика патологических изменений отличалась быстрым развитием межклеточного отека, набуханием

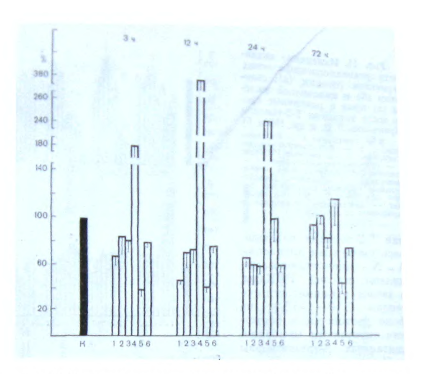


Рис. 12. Изменение активности органеллоспецифических ферментов сыворотки крови крыс в различные сроки после введения Т-2-токсина [Кравченко Л. В. и др., 1983а].

К — контроль; 1 — арилсульфатазы А и В; 2 — кислая РНКаза; 3 — β-галактозидаза; 4 — фруктозобисфосфат-альдолаза; 5 — щелочная фосфатаза; 6 — белок. Доверительные границы рассчитаны как mt для P=0,05. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

органелл и гибелью отдельных тимоцитов с параллельным и столь же быстрым нарастанием репаративных процессов и почти полным восстановлением ультраструктуры клеток к 72 ч. Есть все основания полагать, что важную роль в восстановлении структурных и функциональных свойств вилочковой железы играют макрофаги, обладающие «мощным» лизосомным аппаратом. Именно инфильтрацией этого органа клетками фагоцитарного ряда можно объяснить резкое возрастание активности лизосомных гидролаз, наблюдаемое через 72 ч после введения токсина, несмотря на инволюцию органа к этому сроку.

Следует отметить, что выявленное электронно-микроскопически нарушение ультраструктуры клеточных мембран при Т-2-токсикозе не сопровождалось, как это можно было ожидать, столь же выраженным освобождением маркерных ферментов лизосом. Увеличение неседиментируемой активности кислых гидролаз наблюдали лишь в вилочковой железе. В то же время активность маркерного фермента цитозоля гепатоцитов, фруктозобис-фосфат-альдолазы, возрастала в сыворотке крови параллельно с развити-

ем интоксикации, достигая максимума (383% контрольного уровня) через 12 ч после введения Т-2-токсина (рис. 12). Активность же лизосомных ферментов в сыворотке крови в течение первых суток интоксикации незначительно снижалась, что является, по-видимому, отражением уменьшения уровня их активности в тканях.

Как электронно-микроскопические, так и (особенно) биохимические данные свидетельствуют о непосредственном участии лизосом различных типов клеток в развитии клинических и морфологических симптомов отравления Т-2-токсином, а также о важной роли повреждения клеточных мембранных структур в патогенезе Т-2-микотоксикоза [Кравченко Л. В. и др., 1983а, б]. Выраженные изменения активности лизосомных ферментов в различных органах крыс были обнаружены и при подостром Т-2-токсикозе, вызванном внутрижелудочным введением токсина в дозе 1/7 LD_{50} (0,54 мг/кг) 6 раз в неделю в течение 5 нед [Аврельева Л. И. и др., 1983].

Так же как у крыс, у однодневных индюшат этот токсин вызывал в первые сутки снижение общей активности лизосомных ферментов в печени (рис. 13, а) и активацию их — в селезенке (рис. 14). У индюшат при Т-2-токсикозе наблюдалось резкое *(в 2 раза) возрастание неседиментируемой* активности лизосомных гидролаз на всех сроках эксперимента (рис. 13, б), что указывает на нарушение проницаемости мембран лизосом [Кравченко Л. В., Котик А. Н., 1983].

Сопоставление всех полученных в этой серии экспериментов данных позволяет сделать вывод, что как клиническая картина, так и *ферментная* характеристика алиментарного токсикоза у крыс, вызванного зерном, зараженным F. sporotrichiella, *определяется прежде* всего наличием Т-2-токсина. Анализ имеющихся в литературе клинических и экспериментальных данных, а также результаты собственных исследований указывают на важность повреждающего мембраны лизосом действия ТТМТ в механизме развития микотоксикоза, в частности, алиментарной токсической алейкии (АТА). Попадая в желудочно-кишечный тракт, фузариотоксины *локально* повреждают *лизосомы эпителиальных клеток* слизистых оболочек и вызывают гибель этих клеток (некротическая ангина — открытие «ворот» для инфекции). Резорбтивное действие этих токсинов проявляется в избирательном повреждении лизосом стволовых клеток кроветворных органов (гибель миелобластов, лимфобластов, мегакариобластов и эритробластов), в результате чего развиваются *лейкопения, лимфопения*, тромбоцитопения и эритроцитопения. Клиническими проявлениями этих нарушений являются резкое снижение иммунореактивности организма и фагоцитарных реакций, геморрагии и анемия, т. е. развивается симптомокомплекс, характерный для АТА и экспериментальных фузариотоксикозов.

Конечно, мы еще далеки от расшифровки молекулярных и клеточных механизмов действия ТТМТ. Накопленный, все еще

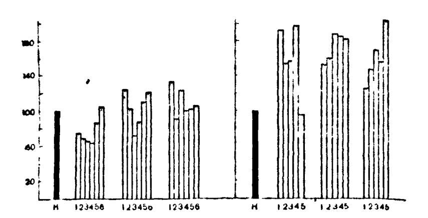


Рис. 13. Изменение общей (а) и неседиментируемой (б) активности лизосомных ферментов печени индюшат в различные сроки после введения Т-2-токсина [Кравченко Л. В., Котик А. Н., 1983].

К — контроль; 1 — кислая РНКаза; 2 — β-галактозидаза; 3 — β-глюкуронидаза; 4 — β-N-ацетилглюкозаминидаза; 5 — арилсульфатазы А и В; 6 — белок. Доверительные границы рассчитаны как mt для P=0,05. По оси ординат — активность ферментов в процентах от контроля.

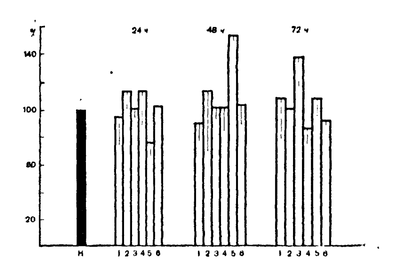


Рис. 14. Изменение активности лизосомных ферментов селезенки индюшат в различные сроки после введения Т-2-токсина [Кравченко Л. В., Котик А. Н., 1983].

Обозначения те же, что и на рис. 13.

незначительный по объему, фактический материал касается главным образом лишь одного из представителей ТТМТ — Т-2-токсина. И мы практически ничего не знаем о механизмах действия других ТТМТ, особенно макроциклического ряда.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ТРИХОТЕЦЕНОВЫМИ МИКОТОКСИНАМИ

Как отмечалось выше, группа ТТМТ включает более 40 близких по структуре соединений, продуцируемых главным образом грибами рода Fusarium. Однако в качестве природных загрязнителей пищевых продуктов и кормов встречаются лишь четыре из них: Т-2-токсин, диацетоксискирпенол, ниваленол и дезоксиниваленол (вомитоксин). Имеющиеся в литературе сведения о частоте и уровнях загрязнения продовольственного сырья ТТМТ в естественных условиях получены в результате спорадически проводимых анализов, часто связанных со вспышками алиментарных токсикозов у сельскохозяйственных животных или с исследованием зерновых продуктов, пораженных плесневыми грибами. Одной из основных причин малочисленности данных о распространенности ТТМТ является отсутствие до настоящего времени высокочувствительных и достаточно простых и надежных методов их анализа.

Как видно из данных табл. 26, чаще всего ТТМТ обнаруживают в зерне кукурузы, пшеницы и ячменя во многих странах Европы, а также Северной Америки; значительно реже — в Индии, Японии и Южной Америке. Следует подчеркнуть, что часто в одном и том же продукте выявляют два или более микотоксинов, продуцируемых Fusarium. Так, M. Jemmali и соавт. (1978) в одном образце кукурузы обнаружили одновременно Т-2-токсин (0,02 мг/кг), дезоксиниваленол (0,6 мг/кг), ниваленол (4,28 мг/кг) и зеараленон (10 мг/кг), а в другом — дезоксиниваленол (0,14 мг/кг), ниваленол (1,18 мг/кг) и зеараленон (2,5 мг/кг).

В исследованиях, проведенных в Японии, выявлена прямая коррелятивная зависимость между уровнем ниваленола и дезоксиниваленола в некоторых хлебных злаках. H. Kamimura и соавт. (1981) при анализе 43 образцов заплесневелого ячменя и пшеницы в 30 из них нашли ниваленол и дезоксиниваленол, в 3 — только ниваленол и в 1 — только дезоксиниваленол. Анализ данных, полученных в период с 1970—1980 гг. при исследовании 128 образцов свежеубранного зерна пшеницы и ячменя в разных префектурах Японии, также свидетельствует об одновременном присутствии в большинстве образцов ниваленола и дезоксиниваленола примерно в одинаковых концентрациях. Например, в 1970 г. все изученные образцы ячменя содержали дезоксиниваленол и ниваленол в количестве 5—7 мг/кг; в 1976 г. 12 из 12 изученных образцов содержали дезоксиниваленол в количестве 0,58 мг/кг и ниваленол в концентрации 0,48 мг/кг; в 1977 г. 5 из 5 образцов содержали эти микотоксины в количестве соответственно 6,5 и 5,2 мг/кг [Yoshizawa T., 1983a]. Кроме этих двух микотоксинов в некоторых образцах обнаруживали и зеараленон

Таблица 26. Уровень загрязнения ТТМТ зерновых продуктов в некоторых странах

Микотоксин	Страна	Вид продукта	Уровень загрязнения, мг на 1 кг	Авторы, год
Т-2-токсин	Венгрия	Кукуруза	0,5—2	C. Szathmáry, 1983
		Зерновые	0,5—5	
	Индия	Кукуруза	4	S. Ghosal и соавт., 1978
		Сафлор	0,5	S. Ghosal и соавт., 1977
		Сорго	—	C. Rukmini, R. Bhat, 1978
	Италия	Кукуруза	0,1—0,15	G. Cirilli, 1983
	Канада	Ячмень	25	P. Scott, 1983
	США	Кукуруза	1—2	R. Vesonder, 1983
	Финляндия	Зерновые	0,01—0,06	E.-L. Hintikka, 1983
	Франция	Кукуруза	0,02	M. Jemmali и соавт., 1978
	ФРГ	Ячмень	0,75	B. Gedek, J. Bauer, 1983
	Чехословакия	Зерновые	0,1—1	J. Bartoš, Z. Matyáš, 1982
	Югославия	Кукуруза	0,55—20,52	S. Pepeljnjak, 1983
Диацетоксискирпенол	Венгрия	Кукуруза	—	
		Зерновые	—	C. Szathmáry, 1983
	Индия	Кукуруза	14	S. Ghosal и соавт., 1978
		Сафлор	1	S. Ghosal и соавт., 1977
	Италия	Кукуруза	0,15	G. Cirilli, 1983
		Ячмень (импорт)	0,2	
	ФРГ	Кукуруза	31,5	B. Gedek, J. Bauer, 1983
Дезоксиниваленол (вомитоксин)	Австрия	Кукуруза	0,03—15	M. Schuh и соавт., 1982
	Великобритания	Кукуруза (импорт)	Более 0,1	J. Gilbert и соавт., 1983
		Ячмень	Менее 0,02	
	Дания	Ячмень	1	B. Hald, P. Krogh, 1983
	Канада	Кукуруза	0,6—2,2; 7,9	P. Scott, 1983
		Пшеница	0,01—4,3	
		Пшеница	До 8,53	H. Trenholm и соавт., 1981
		Ячмень	0,24—0,43	
		Овес	0,08—0,11	R. Vesonder, A. Ciegler, 1979
	США	Кукуруза	4,7—40	R. Vesonder, 1983
		Кукуруза	0,23—41,6	L. Côté и соавт., 1984
		Пшеница	0,14—36,7	
		Овес	0,22—13,5	
	Франция	Кукуруза	0,6	M. Jemmali и соавт., 1978
	ФРГ	Овес	1—20	B. Gedek, J. Bauer, 1983
	Южно-Африканская Республика	Кукуруза	0,04—16	P. Thiel и соавт., 1982
	Япония	Пшеница	0,26—6,5	T. Yoshizawa, 1983
		Ячмень	0,3—10,2	
Ниваленол	Италия	Кукуруза (импорт)	0,1	G. Cirilli, 1983
	Франция	Кукуруза	4,28	M. Jemmali и соавт., 1978
	Южно-Африканская Республика	Кукуруза	До 1,41	P. Thiel и соавт., 1982
	Япония	Пшеница	0,01—5,2	T. Yoshizawa, 1983
		Ячмень	0,14—5,1	

(до 5,93 мг/кг). В южной части Японии за период 1976—1982 гг. дезоксиниваленол был выявлен наряду с ниваленолом в 61,5% образцов пшеницы и ячменя [Yoshizawa T., 1983b]. В Венгрии при анализе различных видов зерна (овес, рожь, ячмень и др.) вместе с Т-2-токсином и диацетоксискирпенолом обнаруживали стахиботриотоксины [Szathmary C., 1983].

Заслуживают внимания данные G. Cirilli (1983) о частоте обнаружения ТТМТ в хлебных злаках в Италии: Т-2-токсин был выявлен в 1—5% образцов зерна (пшеница, рис, ячмень, кукуруза, овес) местного производства и в 4—32% зерна, импортируемого из США, Канады, Аргентины и Австралии; дезоксиниваленол — в 2—9% зерна, произведенного в Италии, и в 3—27% импортного (в 20% образцов кукурузы из Югославии, в 11% образцов ячменя из Канады, в 27% образцов риса из Китая). В настоящее время вследствие высоких частоты и уровня загрязнения дезоксиниваленолом пшеницы урожая 1980, 1981 и 1982 гг. в США и Канаде значительно возрос интерес к этому ТТМТ. Частота его выявления довольно велика: в Австрии он найден в 46% образцов кукурузы [Schuh M. et al., 1982]; в Японии — в 14—100% образцов ячменя и 73—100% образцов пшеницы [Yoshizawa T., 1983b], в США — в 46% образцов кукурузы [Vesonder R., 1983]; в Канаде — до 100% образцов пшеницы, причем в 85% из них в концентрации более 0,3 мг/кг [Scott P., 1983]. Весьма важно, что отсутствуют существенные различия в уровне загрязнения дезоксиниваленолом между продовольственным и кормовым зерном. По данным, полученным в Канаде и США, загрязнение зерна этим токсином может происходить как при хранении, так и в процессе созревания [Vesonder R., 1983]. G. Neish и соавт. (1983) обнаружили, что до 84% кукурузы, убранной с поля поздней осенью или ранней весной (после перезимования под снегом), было заражено грибами рода Fusarium (F. graminearum, F. moniliforme и F. sporotrichiella). При этом в кукурузе выявляли дезоксиниваленол (0,05—6,3 мг/кг) и зеараленон (0,002—0,11 мг/кг).

Исследования, проведенные в Транскейе и Замбии показали, что дезоксиниваленол является единственным ТТМТ, обнаруживаемым в качестве природного загрязнителя пищевых продуктов и кормов в этом регионе [Marasas W. et al., 1979; Thiel P., 1982]. Содержание этого микотоксина было выше (1—4 мг/кг) и он обнаруживался чаще в кукурузе в районах с высокой частотой заболеваемости раком пищевода. В этих районах отмечался также и высокий уровень зараженности кукурузы грибами рода Fusarium — F. moniliforme и F. graminearum. Дезоксиниваленол выявляли в 39% образцов не пораженной грибами (средний уровень 0,04 мг/кг) и в 81% образцов зараженной Fusarium (средний уровень 1 мг/кг, максимальный — 16 мг/кг) кукурузы. Ниваленол обнаружили в 17% образцов непораженной кукурузы в количестве 0,02 мг/кг и в 39% образцов кукурузы, пораженной грибами (средний уровень 0,3 мг/кг, максимальный — 1,41 мг/кг).

ДЕТОКСИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ

ТТМТ, как и большинство других микотоксинов, относятся к высокостабильным соединениям. Еще в самых ранних исследованиях А. Х. Саркисов (1954) показал, что токсины S. alternans устойчивы к действию солнечного и ультрафиолетового света, не разрушаются при обработке 1—5% растворами кислот или при воздействии температуры (100 °С в течение 3 ч или 120 °С в течение 2 ч), в то время как обработка их растворами щелочей приводила к потере токсических свойств. Дендродохиотоксины также не разрушались при автоклавировании (120 °С в течение 1 ч) и обработке растворами аммиака. На токсичность перезимовавшего под снегом зерна не влияли кулинарная обработка (кипячение в течение 2 ч), автоклавирование (120 °С в течение 2 ч), обработка растворами аммиака и слабых кислот [Билай В. И., 1977].

Корма, зараженные в экспериментальных условиях токсигенными штаммами F. sporotrichiella, также не теряли своих токсических свойств при термической обработке при температуре до 250—300 °С [Елистратов И. и др., 1980; Кудашев А. К., 1981]. В пищевых продуктах, изготовленных из муки, искусственно загрязненной чистыми ТТМТ (Т-2-токсином, диацетоксискирпенолом, неосоланиолом, ниваленолом, фузареноном-Х или девоксиниваленолом) после различных видов кулинарной обработки (кипячение, обжаривание, выпечка) сохранялось до 50% токсинов [Kamimura H. et al., 1978, 1979]. В условиях пиролиза (120—210 °С) степень разрушения ТТМТ возрастала с увеличением температуры и длительности воздействия.

Итак, мы рассмотрели основные сведения о ТТМТ — очень важной с практической точки зрения группы микотоксинов, отличающихся повсеместным распространением и сильными токсическими свойствами. И хотя имеющихся данных недостаточно для установления причинной зависимости между ТТМТ и вспышкой АТА, реальность опасности, которую они представляют для здоровья человека не вызывает сомнений. В последние годы мы являемся свидетелями определенной переориентации микотоксикологов — «центр тяжести» исследований постепенно перемещается от афлатоксинов к ТТМТ.

Глава V

Зеараленон и другие микотоксины, продуцируемые Fusarium

Микроскопические грибы рода Fusarium могут продуцировать и другие микотоксины, среди которых наибольшее практическое значение имеют зеараленон и его производные.

ЗЕАРАЛЕНОН

История открытия зеараленона берет свое начало с 1927 г., когда впервые в ряде стран Европы, а также в США, Канаде, Японии и Австралии были зарегистрированы вспышки заболевания неизвестной этиологии у свиней. Основными симптомами этого заболевания являлись вульвовагиниты. При этом отмечалась связь заболевания с употреблением в качестве корма кукурузы, пораженной плесневыми грибами, в частности F. graminearum [Christensen C., 1979; Mirocha C. et al., 1980; Blaney B., 1982]. Однако лишь в 1962 г. M. Stob и соавт. показали, что изолят F. graminearum, выделенный из заплесневелой кукурузы, продуцирует вещество с выраженными анаболическими и эстрогенными свойствами, которое получило название зеараленон. Позднее зеараленон был выделен из кукурузы, пораженной F. graminearum и явившейся причиной заболевания у свиней [Christensen C. et al., 1965].

По своей структуре зеараленон является лактоном резорциловой кислоты [W. Urry et al., 1966]. Природный зеараленон имеет транс-конфигурацию. Он представляет собой белое кристаллическое вещество, плохо растворимое в воде (2 мг на 100 мл) и n-гексане (50 мг на 100 мл), хорошо растворимое в этаноле (24 г на 100 мл), метаноле, ацетонитриле, ацетоне (58 г на 100 мл) и бензоле (1,13 г на 100 мл). Имеет три максимума поглощения в ультрафиолете (в растворе этанола) — при 236 нм ($\varepsilon=29\,700$), 274 нм ($\varepsilon=13\,909$) и 316 нм ($\varepsilon=6020$). Зеараленон и некоторые его производные обладают сине-зеленой флюоресценцией в ультрафиолетовом свете при 360 нм, усиливающейся при 260 нм [Mirocha C. et al., 1980]. В табл. 27 представлены некоторые свойства зеараленона и его производных, продуцируемых грибами рода Fusarium. Однако только два из них — зеараленон и зеараленол — обнаружены как природные загрязнители пищевых продуктов и кормов, остальные выделены из чистых культур в лабораторных условиях.

Основным продуцентом зеараленона является F. graminearum (F. roseum), но в лабораторных условиях способность синтезировать в небольших количествах этот микотоксин обнаружена у F. moniliforme и F. tricinctum [Christensen C., 1979]. Максималь-

Таблица 27. Химическая структура и некоторые свойства зеараленона и его производных [по Mirocha C., 1980; Yoshizawa T., 1983]

Микотоксин	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	R_8	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Точка плавления, °C
Зеараленон	H	H	H_2	H_2	H_2	=O	H_2	H_2	$C_{18}H_{22}O_5$	318	164—165
α-Зеараленол	H	H	H_2	H_2	H_2	OH(R)	H_2	H_2	$C_{18}H_{24}O_5$	320	171—171,5
8′-Оксизеараленон	H	H	H_2	H_2	H_2	=O	H_2	OH(R)	$C_{18}H_{22}O_6$	334	210—212
8′-epi-Оксизеараленон	H	H	H_2	H_2	H_2	=O	H_2	OH(S)	$C_{18}H_{22}O_6$	334	172—174
3′-Оксизеараленон (F-5-1)	H	H	OH	H_2	H_2	=O	H_2	H_2	$C_{18}H_{22}O_6$	334	—
3′-Оксизеараленон (F-5-2)	H	H	OH	H_2	H_2	=O	H_2	H_2	$C_{18}H_{22}O_6$	334	168—169,5
6′, 8′-Диоксизеарален	H	H	H_2	H_2	H_2	=O	H_2	OH	$C_{18}H_{24}O_6$	336	—
4′, 5′-Диоксизеарален	H	H	H_2	OH	OH	H_2	H_2	H_2	$C_{18}H_{24}O_6$	336	—
5-Формилзеараленон	H	CHO	H_2	H_2	H_2	=O	H_2	H_2	$C_{19}H_{22}O_6$	346	188—190
7′-Дегидрозеараленон	H	H	H_2	H_2	H_2	=O	H	H	$C_{18}H_{20}O_5$	316	197—200
LL-Z 1640-1	CH_3	H	H_2	OH(S)	OH(S)	=O	H_2	H_2	$C_{19}H_{24}O_7$	364	151—153
LL-Z 1640-2	CH_3	H	H_2	OH	OH	=O	H	H	$C_{13}H_{22}O_7$	362	172—176
LL-Z 1640-3	CH_3	H	H_2	OH	OH	OH	H_9	H_2	$C_{19}H_{26}O_7$	366	176
LL-Z 1640 4	CH_3	H	H_9	OH	OH	OH	H	H	$C_{19}H_{24}O_7$	364	193—195

ное токсинообразование наблюдали при культивировании F. graminearum на рисе (3,09 г/кг), кукурузе (2,58 г/кг) и пшенице (2,48 г/кг). При этом инкубацию проводили в два этапа: сначала в течение 2 нед при 22—25 °С, а затем 8 нед при 15 °С [Eugenio C. et al., 1970]. При влажности субстрата ниже 25% токсинообразование резко снижалось. Интерес представляют данные этих же авторов о синтезе зеараленона в смешанных культурах. При одновременном заражении кукурузы F. roseum и другими грибами (A. flavus, A. niger, A. ruber, A. ochraceus и различными видами Penicillium) токсинообразующая способность F. roseum резко подавлялась, но если грибы-конкуренты засевали через неделю после посева основной культуры (F. roseum), синтез зеараленона снижался только на 25—50%.

Биологическая активность. Зеараленон отличается от других микотоксинов наличием выраженных гормоноподобных (эстрогенных) свойств и отсутствием острого токсического (летального) действия даже при введении его животным в очень больших дозах. По данным C. Christensen (1979) LD_{50} при введении внутрь составляет для морских свинок более 5000 мг на 1 кг массы тела, для крыс —более 10 000, для самок мышей — более 20 000 и для цыплят — более 15 000 мг/кг. При внутрибрюшинном введении LD_{50} для самок мышей и морских свинок составляет 500 мг/кг, а для самцов крыс — 5490 мг/кг. К эстрогенному действию зеараленона наиболее чувствительны свиньи, а также крупный рогатый скот, овцы, цыплята, индейки, крысы, мыши, морские свинки и обезьяны [Mirocha C., 1980]. У 6-недельных свиней, получавших токсин внутрь в количестве более 1 мг в сутки, быстро развивался эстрогенный синдром (увеличение вульвы, матки и молочных желез, выпадение влагалища, атрофия яичников). Гистологические изменения выражались в гиперплазии протоков молочных желез, пролиферации клеток миометрия, метаплазии эпителия шейки матки и влагалища, гипоплазии и атрезии фолликулов яичников [Kurtz H. et al., 1969; Mirocha C., Christensen C., 1974]. У молодых самцов наблюдались признаки феминизации (увеличение молочных желез и атрофия семенников). Длительное содержание свиней на рационах с включением зеараленона в концентрации 100 мг на 1 кг корма приводило к дегенеративным изменениям яичников и матки, а также бесплодию. При концентрации токсина 25 и 50 мг на 1 кг корма отмечали значительное уменьшение размеров плодов, иногда их резорбцию и аномалии развития [Chang K. et al., 1979]. При внутримышечном введении зеараленона беременным свиньям наблюдали увеличение числа мертворожденных и высокий процент случаев косолапости у новорожденных [Miller J. et al., 1973].

У крупного рогатого скота интоксикация зеараленоном вызывает бесплодие. У коров, получавших токсин с кормом в течение 42 дней в дозах 25 и 100 мг/кг, отмечали развитие симптомов гиперэстрогенизма [Mirocha C. et al., 1978b]. У крыс, длительно получавших внутрь зеараленон в дозе 1 или 5 мг/кг в день,

не наблюдали каких-либо клинических и морфологических изменений; при увеличении дозы до 25 мг/кг было обнаружено некоторое уменьшение массы тела и семенников, но масса матки не изменялась [Hidy P. et al., 1977]. Не выявлено патологических изменений и у крыс-отъемышей, получавших внутрижелудочно зеараленон в дозе 1,25 и 3,75 мг/кг в течение 8—10 нед [Kiessling K.-H., 1982]. В то же время при внутримышечном введении токсина крысы проявляли высокую чувствительность к утеротропному действию зеараленона. Введение микотоксина даже в низких дозах (0,06—1,8 мг/кг) в течение 7 дней приводило к достоверному увеличению массы матки [Mirocha C. et al., 1967]. C. Ruzsás и соавт. (1979) у крыс, получавших в течение 14 нед с кормом загрязненную зеараленоном кукурузу (34 мг/кг), наблюдали уменьшение массы половых желез и нарушение сперматогенеза. У мышей введение внутрь зеараленона в суммарном количестве 12,5; 25, 50 и 100 мкг приводило к увеличению относительной массы матки соответственно на 46, 95, 137 и 209% [Mirocha C. et al., 1968].

Менее выражено действие зеараленона на птиц. У цыплят, получавших токсин в концентрации 300 и 800 мг на 1 кг корма, отмечали увеличение привесов, массы фабрициевой сумки, гребешка, размеров яичников и появление множественных кист в яйцеводах [Mirocha C., Christensen C., 1974; Allen N. et al., 1981]. Аналогичные изменения наблюдали и у 10—12-дневных индюшат при дозе зеараленона, равной 300 мг на 1 кг корма. Не вызывало патологические изменения у цыплят-курочек однократное введение им внутрь зеараленона в дозе 15 000 мг на 1 кг массы тела, но внутримышечные инъекции токсина в дозе 50—800 мг/кг в течение 7 дней приводили к увеличению массы яйцеводов, коррелирующему по степени выраженности с дозой зеараленона [Chi M. et al., 1980]. У гусей и индюков, получавших с кормом этот токсин, выявляли дегенеративные изменения эпителия семенников и нарушение процесса сперматогенеза [Palyusik M. et al., 1971].

Тератогенное действие зеараленона было доказано в опытах на крысах. При введении им внутрь токсина на протяжении всего периода беременности обнаружили аномалии в развитии скелета у 12,8% плодов при дозе 1 мг на 1 кг массы тела, у 26,1% — при 5 и у 36,8% — при 10 мг/кг [Ruddick J. et al., 1976]. При содержании крыс на рационах, включающих зеараленон в концентрации 10 мг/кг, отмечали возрастание смертности плодов, а у 56% самок — их полную резорбцию [Bailey D. et al., 1976].

У зеараленона обнаружена избирательная антибактериальная активность в отношении грамположительных спорообразующих бактерий: Bacillus anthracis, B. cereus, B. stearothermophilus, B. subtilis и B. thuringiensis. Токсин подавлял рост B. thuringiensis на 80% при концентрации 2,5 мкг/мл и полностью — при дозе 10 мкг/мл [Boutibonnes P., 1979].

Не удалось обнаружить мутагенного действия зеараленона в опытах с Salmonella typhimurium (в концентрациях до 50 мкг) ни до, ни после его активации ферментами микросом печени крысы. В то же время выявлено мутагенное действие зеараленона на B. subtilis [Hayes A., 1978; Boutibonnes P., 1979].

Эстрогенные свойства зеараленона и родственных соединений, определяемые по их утеротропному действию на мышей или крыс, в значительной степени зависят от структурных особенностей молекулы. Активность природного транс-изомера зеараленона в 2000 раз ниже, чем диэтилстильбэстрола. Цис-изомер, получаемый при облучении зеараленона ультрафиолетом, значительно более активен, чем природный микотоксин. В то же время R-энантиомер, полученный синтетически, неактивен в отличие от природного S-энантиомера. Восстановление карбонильной группы при C-6′, также как и двойной связи при C-1′, 2′, сопровождается усилением эстрогенных свойств зеараленона. Например, активность α-зеараленола в 3—4 раза выше, чем активность зеараленона, а его диастереоизомер — β зеараленол — по активности не отличается от зеараленона. Замена OH-группы при C-6′ сопровождается снижением активности. 8′-Оксизеараленон и 4′,5′-диоксизеараленон вообще не обладают активностью (см. табл. 27). Показано, что замена водорода при C-7′ в структуре зералана (6′-дезоксипроизводное зеараленона с такой же, как у зеараленона, активностью) на —CHO или —COOH приводит к резкому усилению эстрогенных свойств. В частности, 7′-формилзеаралан (смесь диастереоизомеров) в 50 раз более активен, чем зеаралан, а 7′-карбоксизеаралан — в 192 раза. Замена радикала при C-2 и C-4 тоже значительно изменяет биологическую активность зеараленона. Так, 4-метоксипроизводное зеараленона и 2,4-диметоксизеараленон не обладают эстрогенным действием [Mirocha C. et al., 1978a; Pathre S., Mirocha C., 1980].

Следует отметить, что некоторые производные зеараленона, например, зеараланол [синонимы: зеранол, 7α-зеараланол, (7R)-зеараланол, препарат Ralgro] нашли применение в качестве стимуляторов роста крупного рогатого скота и овец. По своей структуре зеараланол отличается от α-зеараленола восстановленной двойной связью при C-1′, 2′. Это соединение малотоксично (LD_{50} для грызунов более 40 г на 1 кг массы тела), не обладает мутагенными тератогенными, канцерогенными и иммунодепрессивными свойствами. Оно быстро выводится из организма главным образом с желчью в виде глюкуронидов или сульфатов [Baldwin R. et al., 1983]. Период его полужизни в сыворотке крови различных животных составляет 18—26 ч, у человека — 22 ч [Migdalof B. et al., 1983].

Сведения о влиянии зеараленона на здоровье человека отсутствуют, однако R. Schoental (1983) предполагает, что преждевременное половое созревание, наблюдаемое среди населения некоторых стран, может быть следствием перинатального воздействия зеараленона, загрязняющего пищевые продукты. Этот токсин на

шел применение в фармакологической практике (препарат Frideron) для лечения некоторых гормональных дисфункций у женщин [Mirocha C. et al., 1980; Yoshizawa T., 1983a].

Метаболизм, молекулярный и клеточный механизм действия

Сведения о тканевом распределении зеараленона малочисленны и часто разноречивы Так, по данным C. Mirocha и соавт. (1977), при введении ^{3}[H]-зеараленона крысам внутрь в дозе 1 мг максимальная радиоактивность через 30 мин определялась в желудочно-кишечном тракте (около 50% введенной дозы), 1,7% — в печени, 0,01% — в матке и яичниках. Y. Ueno и соавт. (1977a) показали, что при введении ^{3}[H]-зеараленона в дозе 10 мг на 1 кг массы тела максимальный уровень токсина в различных органах достигается через 6 ч. При однократном внутривенном введении ^{3}[H]-зеараленона мышам максимальный уровень метки выявляли в первые 20 мин в желчи и моче; печень, почки, матка и семенники в этот срок также накапливали значительные количества токсина [Appelgren L.-E. et al., 1982]. У цыплят при введении меченого зеараленона через 12 ч около 41% метки выявляли в желудочно-кишечном тракте, 21% — в экскрементах, 20,1% — в печени, селезенке, жировой ткани. Не удалось обнаружить токсин в скелетных мышцах, миокарде, коже и семенниках. Через 24 ч с экскрементами выводилось 75% введенного количества [Mirocha C. et al., 1978b]. C. Mirocha и соавт. (1982) с помощью радиоиммунологических методов показали, что уровень мечвного зеараленона во всех съедобных тканях цыплят-бройлеров составлял всего 1—2% введенной дозы. При этом период полужизни зеараленона составлял: в печени — 11,9 ч, почках — 24,2 ч, мышцах — 27,7 ч, коже — 34,5 ч, семенниках и яичниках — 68,8 ч, крови — 75—89 ч. Установлено, что в мышечной ткани зеараленон и его метаболиты присутствуют в низких и неопасных для человека концентрациях (максимально 111 мкг/кг). У кур-весушек ^{14}[C]-зеараленон также быстро выводился, причем 30% — в свободной форме и 30% — в виде конъюгатов [Daily R. et al., 1980].

При введении крысам ^{3}[H]-зеараленона до 80% его выводилось с калом и 20—30% — с мочой [Hidy P. et al., 1977]. Аналогичные результаты были получены в опытах с ^{14}[C]-зеараленоном: за 24 ч с калом выводилось 40—60% введенного количества как в свободной, так и конъюгированной форме, а с мочой — только 4—6% в неизмененной форме [Ueno Y. et al., 1977a]. Показано, что зеараланол, применяющийся в качестве стимулятора роста, также выводился главным образом с желчью у крыс, кроликов, собак, обезьян, овец и крупного рогатого скота. При дозе 36 мг через 65 дней после подкожной имплантации он не обнаруживался в мышечной ткани животных [Hidy P. et al., 1977]. В моче крыс, которым вводили зеараленон, наряду с неизмененным зеараленоном обнаруживали α- и β-зеараленол, главным об-

разом в свободной и частично в конъюгированной форме [Smith T., 1982]. В исследованиях, проведенных in vitro с гомогенатами печени крыс, показано, что за 30 мин инкубации около 30% зеараленона подвергается метаболическому превращению. При этом 60% образующихся метаболитов представлены глюкуронидами, а 25% — α-зеараленолом. Образование зеараленола возрастает в 3 раза при добавлении в среду инкубации NADH или NADPH [Kiessling K.-H., Pettersson H., 1978]. Скорость образования зеараленола in vitro была одинаковой в препаратах печени крысы, мыши, морской свинки и человека, но значительно ниже в препаратах печени кролика, в которых образовывались преимущественно водорастворимые метаболиты [Ueno Y. et al., 1977a].

В последующих исследованиях были получены доказательства в пользу того, что биотрансформация зеараленона в зеараленол осуществляется при участии 3α-гидроксистероид-дегидрогеназы, активность которой выявляется как в микросомах (NADH-зависимая), так и в цитозоле (NADPH-зависимая) [Olsen M. et al., 1981; Ueno Y., Tashiro F., 1981; Olsen M., Kiessling K.-H., 1983; Ueno Y. et al., 1983]. При инкубации надмитохондриального надосадка (9000 g) печени крыс с зеараленоном при pH 7,4 наряду с α-зеараленолом (основной метаболит), обнаруживали и β-зеараленол, а в кислой среде при pH 4,5 — только α-зеараленол [Tashiro F. et al., 1980; Ueno Y., Tashiro F., 1981]. Поскольку эстрогенная активность главного метаболита зеараленона, α-зеараленола, значительно выше, то, по-видимому, есть все основания рассматривать это соединение как активированную форму зеараленона.

В работах T. Smith (1980, 1982) было показано, что скорость метаболических превращений зеараленона в организме зависит от характера питания, в частности, от уровня белка в рационе экспериментальных животных. Увеличение количества белка в рационе крыс с 16,3 до 40% сопровождалось повышением экскреции токсина с мочой с 14,8 до 45,7% и с желчью — с 7,9 до 14,8% введенной дозы. При этом значительно возрастило выведение не только неизмененного зеараленона, но и его метаболитов — α- и β-зеараленола — как в свободной, так и конъюгированной форме.

В последние годы повысилось внимание исследователей к проблеме расшифровки механизма действия зеараленона, особенно после начала применения его производных в качестве стимуляторов роста сельскохозяйственных животных. Как известно, одним из основных проявлений эстрогенных свойств зеараленона и его производных является увеличение массы матки (утеротропное действие) и молочных желез. В опытах на неполовозрелых мышах с удаленными яичниками было показано, что зеараленон вызывает увеличение массы матки. Это сопровождалось усилением включения меченых аминокислот в белки матки и ^{3}(H)-уридина — в РНК, достигающем максимума через $^{1}/_{2}$—1 ч после введения токсина [Ueno Y. et al., 1977a]. Обнаружено, что зеараленон и его производные — α-зеараленол и α-зеараланол — подобно

17β-эстрадиолу как in vivo, так и in vitro индуцируют в матке неполовозрелых крыс синтез специфических (индуцируемых) белков с молекулярной массой 52 000. В опытах in vitro зеараленон индуцировал синтез этих белков уже через 15 мин, а предварительное внесение в среду ингибиторов синтеза РНК, α-аманитина и актиномицина D, снимало индуцирующий эффект зеараленона [Kawabata Y. et al., 1982]. Степень индукции синтеза белка in vivo была одинакова у зеараленона и α-зеараленола и составляла соответственно 82 и 72%.

При изучении влияния зеараленона на активность ферментов синтеза РНК было показано, что он стимулирует активность РНК-полимераз I, II и III [Kawabata Y. et al., 1979; Tashiro F. et al., 1980].

Предполагают, что биологическое действие зеараленона и родственных соединений определяется их способностью взаимодействовать с эстрадиолсвязывающими рецепторами в клетках-мишенях. Имеются экспериментальные доказательства в пользу образования комплексов этих микотоксинов с эстрадиолсвязывающими рецепторами цитозоля в матке крыс и мышей и в молочной железе крыс [Greenman D. et al., 1977; Boyd P., Wittliff J., 1978; Mirocha C., 1979; Katzenellenbogen B. et al., 1979; Tashiro F. et al., 1980]. Большой интерес представляют данные P. Martin и соавт. (1978) о способности зеараленона и зеараленолов взаимодействовать с эстрадиолсвязывающими рецепторами в культуре клеток опухоли молочной железы человека. Важно, что эти микотоксины значительно стимулируют пролиферацию опухолевых клеток.

Способность взаимодействовать с эстрадиолсвязывающими рецепторами клеток-мишеней коррелировала с эстрогенной активностью зеараленона и его производных. По степени конкурентно-

го ингибирования процесса взаимодействия β-эстрадиола или диэтилстильбэстрола со специфическими рецепторами цитозоля производные зеараленона располагаются в следующей последовательности: α-зеараланол > α-зеараленол > β-зеараланол > зеараленон > β-зеараленол [Ueno Y. et al., 1979; Tashiro F. et al., 1980]. Образующиеся комплексы зеараленон — рецептор быстро транслоцируются в ядра, где, по-видимому, они взаимодействуют с ДНК, вызывая тем самым изменение скорости синтеза РНК и белка [Boyd P., Wittliff J., 1978; Katzenellenbogen B. et al., 1979; Mirocha C., 1979]. Появились сообщения о наличии специфических рецепторов, связывающих эстрогены, и в цитозоле и ядрах печеночных клеток. Показано, что зеараленон, зеараланол и зеараленол подобно диэтилстильбэстролу могут взаимодействовать с рецепторами цитозоля печени крыс [Powell-Jones W. et al., 1979, 1981].

Загрязнение пищевых продуктов зеараленоном

В естественных условиях зеараленон встречается как загрязнитель главным образом зерновых продуктов. В значительных концентрациях он обнаружен в кукурузе, пшенице, ячмене, а также в овсе, сорго, различных кормах во многих странах Европы, в США, Канаде, Австралии, Индии, Японии, ЮАР [Ghosal S. et al., 1978; FAO, 1979; Christensen C., 1979; Mirocha C. et al., 1980; Thaler M., 1981]. В большинстве случаев данные о частоте и уровнях загрязнения продовольственного и кормового зерна зеараленоном были получены при анализе причин алиментарных токсикозов сельскохозяйственных животных (табл. 28). Важно отметить, что основным природным субстратом, в котором наиболее часто обнаруживают зеараленон, является кукуруза. При этом следует иметь в виду, что его продуценты — F. graminearum — могут поражать кукурузу непосредственно в поле на корню и быть причиной так называемой гнили початков и стеблевой гнили. Иными словами, и это является особенностью данного микотоксина, загрязнение зеараленоном кукурузы происходит как при ее хранении, так и на корню. В США, например, по данным, суммирующим результаты анализов до 1976 г., зеараленон обнаружили в 1% образцов кукурузы в 1967 г.; в 1968—1969 гг. — в 2%, в 1972 г. — в 17% и в 1973 г. — в 10% образцов. Концентрация микотоксина при этом варьировала от 0,4 до 5 мг/кг, но в большинстве случаев не превышала 1 мг/кг [Stoloff L., 1976; Shotwell O., 1977]. По данным за 1981 г., 12% образцов кормов, главным образом кукурузы, а также комбикормов содержали зеараленон в количестве 0,1—8 мг/кг [Cole L. et al., 1984]. Токсин в концентрации 0,025—0,1 мг/кг был обнаружен в 67% изученных образцов кукурузной пыли на элеваторах [Palmgren M. et al., 1983]. В Югославии случаи гиперэстрогенизма у свиней, вызванные загрязнением кукурузы зеараленоном, наблюдали в 1963, 1966, 1969, 1972 и 1974 гг. Например, в 1972 г. более 50% образцов кукурузы оказались зараженными продуцен-

Таблица 28. Уровень загрязнения зеараленоном зерновых продуктов и кормов, вызвавших алиментарные токсикозы у сельскохозяйственных животных в некоторых странах *

Продукт	Причины проведения анализа	Страна, регион	Уровень загрязнения, мг/кг
Кукуруза	Поражение плесенью на корню	Канада	0.0005—0,04
	Эстрогенный синдром у свиней	То же	0,2
	То же	СССР	—
	» »	США	0,1—0,15 до 6,4
	Выкидыши у свиней	То же	32
	Поражение плесенью	» »	0,1—1,5
	Эстрогенный синдром у сельскохозяйственных животных	Франция	2,3
	Поражение плесенью	То же	До 170
	Эстрогенный синдром у свиней	Югославия	35,6
	Поражение плесенью	То же	0,7—14,5
	Эстрогенный синдром у свиней	ЮАР	10
Ячмень	Снижение плодовитости, увеличение числа мертворожденных у свиней	Великобритания	0,5—0,75
Сорго	Эстрогенный синдром у свиней	США	2—5,6
	Выкидыши у свиней	То же	12
Комбикорма	Бесплодие у молодых сельскохозяйственных животных	Великобритания	14
	Токсикозы у сельскохозяйственных животных	Венгрия	5—75
	Эстрогенный синдром у свиней	Канада	0,066—1
	То же у свиней и крупного рогатого скота	США	0,1—2,9
	Бесплодие и выкидыши у свиней	То же	0,01
	Эстрогенный синдром у свиней	» »	0,5—87,3
	Бесплодие у молодых сельскохозяйственных животных	Финляндия	25
	Эстрогенный синдром у свиней	Югославия	0,5
	То же	ЮАР	0,95
	То же, гибель свиней	Австралия	8,0

* По данным В. В. Рухляда, С. М. Николаевой (1977); G. Bennet, O. Shotwell (1979), H. Aucock и соавт. (1980); J. Sutton (1982), B. Blaney и соавт. (1984).

том зеараленона и 42% образцов содержали этот токсин в количестве 0,7—37,5 мг/кг. По данным за 1982 г. 70,7% образцов кормов в Югославии содержали зеараленон в концентрации 0,2—20 мг/кг, в том числе 83,3% образцов кукурузы, 88,3% проб комбикормов для свиней и 100% образцов комбикормов для крупного рогатого скота [Sutic M. et al., 1982; Pepeljnjak S., Balzer I., 1982]. В Венгрии также при изучении фузариотоксикозов у свиней и молочных коров в кормах и кукурузе был найден зеараленон в количестве до 80 мг/кг. Во Франции, по данным одного из исследований 1974 г., в 85% образцов кукурузы содержание зеараленона доходило до 170 мг/кг [Collet J., Regnier J., 1976; FAO, 1979]. В Польше в период 1975—1981 гг. зеараленон (максимальная концентрация 2 мг/кг) был выявлен только в 3 из 477 образцов зерновых продуктов [Chelkowsky J., Golinski P., 1982]. Высока частота обнаружения зеараленона в кукурузе и комбикормах в Австрии, Великобритании, Чехословакии, Аргентине, Замбии и ЮАР [Hesseltine C. et al., 1978; FAO, 1979; Lopez T., Tapia M., 1980; Schuh M. et al., 1982; Bartoš J., Matyaš Z., 1981; Thiel P. et al., 1982]. В 1976—1982 гг. в Японии токсин в количестве 0,02—6,5 мг/кг выявили в 17,7% образцов пшеницы и ячменя [Yoshizawa T., 1983b].

Значительно меньше сведений о загрязнении зеараленоном пищевых продуктов. P. Scott (1978) обнаружил этот токсин в кукурузных хлопьях в количестве 0,014—0,02 мг/кг. G. Ware и C. Thorpe (1978) нашли зеараленон в кукурузной муке (в 9 из 11 проб в количестве 0,012—0,069 мг/кг). В Замбии высокий уровень (0,92 мг/л) токсина был обнаружен в кукурузном пиве [Lovelace C., Nyathi C., 1977]. Зеараленон выявили в 11% исследованных образцов готовых к употреблению напитков, каш и пива местного производства в Свазиленде (8—53 мг/кг) и в 12% образцов пива в Лесото (0,3—2 мг/л) [Martin P., Keen P., 1978].

Примечательно, что C. Mirocha и соавт. (1979) обнаружили наряду с зеараленоном в овсе и кукурузе, явившейся причиной гиперэстрогенизма у свиней, и зеараленол в концентрации 0,15—4 мг/кг. Необходимо подчеркнуть, что загрязненные зеараленоном корма и кукуруза вместе с зеараленоном содержали ТТМТ — дезоксиниваленол и Т-2-токсин.

Важное практическое значение имеют работы по изучению влияния процессов переработки зерна кукурузы на уровень его загрязнения зеараленоном. G. Bennett и соавт. (1976, 1978) показали, что микотоксин концентрируется главным образом внутриклеточно и во фракциях с высоким содержанием жира. В крупке и муке простого помола (без удаления отрубей), а также в муке, полученной при сухом помоле кукурузы, определялось около 20% исходного количества зеараленона (в цельном зерне). При влажном помоле загрязненной кукурузы в крахмале токсин не выявляли, а его концентрация в клейковине была выше, чем в клетчатке и зародыше. L. Stoloff и Dalrymple B. (1977) не обнаружили зеараленон в продуктах помола кукурузы, отобранных

на 82 мельницах в 20 штатах США. Тепловая обработка в нейтральной или кислой среде не разрушает зеараленон, а в щелочной среде при 100 °С за 60 мин разрушается 56% токсина. Обработка загрязненной кукурузы 0,03% раствором персульфата аммония или 0,01% H_2O_2 также приводит к разрушению зеараленона [Matsuura Y. et al., 1979].

Таким образом, зеараленон представляет собой серьезную проблему главным образом для животноводства. Получено еще очень мало данных о загрязнении этим микотоксином пищевых продуктов, в частности, продуктов, подвергнутых ферментации (пиво и другие напитки из кукурузы и сорго). Следует иметь в виду возможность накопления зеараленона и его производных в тканях сельскохозяйственных животных, получавших загрязненные корма или соответствующие стимуляторы роста. Учитывая выраженную эстрогенную активность зеараленона, нельзя полностью исключить возможность его неблагоприятного действия на здоровье человека.

ДРУГИЕ МИКОТОКСИНЫ, ПРОДУЦИРУЕМЫЕ FUSARIUM

Некоторые виды Fusarium наряду с ТТМТ и зеараленоном могут продуцировать и другие токсические метаболиты, среди которых особый интерес представляют микотоксины F. moniliforme. F. moniliforme относится к так называемым полевым плесеням, поражающим многие зерновые культуры (просо, овес, сорго, ячмень, кукуруза, пшеница, рис и др.). Токсигенные штаммы F. moniliforme были выделены также из бобов сои, перца, сушеной рыбы, персиков [Steyn P., Jemmali M., 1977; Kriek N. et al., 1977; Burmeister H. et al., 1979]. В Южной Африке F. moniliforme является преобладающим видом грибов, обнаруживаемым на кукурузе. Показано, что большинство (до 87—88%) изолятов F. moniliforme являются токсигенными [Korpinen E., Ylimaki A., 1972; Marasas W. et al., 1979]. Так, по данным C. Rabio и соавт. (1982), из 111 штаммов этого вида грибов, выделенных из образцов проса, кукурузы и сорго, только 13 штаммов были нетоксичными, а из 18 изолятов F. moniliforme var subglutinans, выделенных из кукурузы и сорго, — только один штамм.

Доказана этиологическая роль F. moniliforme в так называемой лейкоэнцефаломаляции лошадей [Wilson B., Maronpot R., 1971]. Заболевание относится к алиментарным токсикозам и связано с употреблением в качестве корма кукурузы, пораженной F. moniliforme (F. verticillioides). Оно встречается в США, Аргентине, Египте, Греции, Франции, Японии и Китае [Piennar J. et al., 1981; Magnol J., et al., 1983], характеризуется высокой смертностью, некротическим расплавлением белого вещества головного мозга, появлением некротических очагов в коре головного мозга и сером веществе спинного мозга. В пограничных с очагами некроза зонах белого вещества отмечаются разряжение и периваскулярные кровоизлияния; в печени часто обнаруживают

фиброз, жировую инфильтрацию гепатоцитов, пролиферацию эпителия желчных протоков [Kellerman T. et al., 1972; Marasas W. et al., 1976]. Лейкоэнцефаломаляция была воспроизведена у лошадей при скармливании им некоторых штаммов F. moniliforme [Marasas W. et al., 1976; Kriek N. et al., 1981; Pienaar J. et al., 1981]. К токсическому действию F. moniliforme чувствительны многие виды животных (свиньи, овцы, мыши, крысы, кролики, цыплята, утята и обезьяны), однако характерное для лейкоэнцефаломаляции поражение головного мозга наблюдается только у лошадей [Kriek N. et al., 1981a, b].

Несмотря на то что токсические свойства F. moniliforme давно известны и интенсивно изучаются в течение многих лет, продуцируемые ими микотоксины охарактеризованы недостаточно Остановимся на наиболее важных из них.

Монилиформин. Впервые монилиформин выделили из культуры F. moniliforme в 1973 г. R. Cole и соавт. В более поздних исследованиях было показано, что наряду с F. moniliforme его продуцентами являются F. fusarioides, F. acuminatum, F. avenaceum и F. oxysporum, выделенные из различных растительных продуктов в странах Южной Африки [Rabie C. et al., 1978, 1982]. В лабораторных условиях F. moniliforme при культивировании на природных субстратах продуцирует монилиформин в количестве более 10 г/кг. Описан изолят, выделенный из проса, который синтезировал монилиформин в количестве 33,7 г/кг зерна [Rabie C. et al., 1982].

По структуре монилиформин представляет собой натриевую или калиевую соль 1-оксициклобут-1-ен-3,4-диона. Он имеет два

O O H OR

R = K или Na

Монилиформин

максимума поглощения в ультрафиолетовом свете при 229 нм ($\varepsilon = 19\,100$) и 260 нм ($\varepsilon = 5\,600$) в водном растворе [Steyn M. et al., 1978]. Для обнаружения монилиформина после его разделения методом тонкослойной хроматографии пластины обрабатывают 0,1% раствором нингидрина в метаноле или 1% раствором 2,4-динитрофенилгидразина в 6N H_2SO_4. После нагревания при 100 °C обработанное нингидрином пятно (монилиформин) приобретает коричневый цвет, а обработанное 2,4-динитрофенилгидразином — оранжево-красный.

Острый токсикоз у лабораторных животных, вызванный монилиформином, характеризуется быстрым развитием мышечной слабости, нарушением дыхания, выраженным цианозом, коматозным

состоянием и гибелью в первые 12 ч. При однократном введении внутрь LD_{50} монилиформина составляет: для однодневных цыплят — 5,4, 7 дневных утят — 3,68, мышей — 47,6, самцов и самок крыс — соответственно 50 и 41,57 мг на 1 кг массы тела; при внутрибрюшинном введении для самцов и самок мышей — 29,1 и 20,9 мг/кг; для куриных эмбрионов — 2,8 мкг на яйцо [Cole R. et al., 1973; Kriek N. et al., 1977; Burmeister H. et al., 1979, 1980]. При подострой интоксикации монилиформином на первый план выступают симптомы недостаточного кровоснабжения миокарда. При этом гистологически у крыс, например, выявляют гиалиновое перерождение миокарда, некрозы и очаги фиброза, некротические и дегенеративные изменения клеток печени, почек, надпочечников, слизистой оболочки желудка и тонкой кишки [Kriek N. et al., 1977].

У монилиформина не обнаружено мутагенных свойств [Wehner F. et al., 1978].

Метаболизм и механизм действия монилиформина не изучены. В опытах на культуре ретикулоцитов кролика не удалось выявить его влияния на синтез белка. Не обнаружено структурных и функциональных изменений в лизосомах печени и почек мышей при интоксикации монилиформином [Ueno Y., Shimada N., 1974; Farb R. et al., 1976]. Предполагают, что существенное значение в механизме действия этого токсина может иметь его взаимодействие с ДНК, а также ингибирование активности ферментов цикла трикарбоновых кислот [Kriek N. et al., 1977; Thiel P., 1978]. P. Thiel (1978) подчеркивает, что острое токсическое действие монилиформина сравнимо с влиянием других ингибиторов электронного транспорта в митохондриях, в частности цианидов.

Некоторые авторы полагают, что длительное поступление с пищей монилиформина может быть одной из причин идиопатической кардиомиопатии у людей [Kriek N. et al., 1981b]. Более глубокие исследования токсических свойств токсина помогут объяснить и причины выявленной корреляции между уровнем загрязнения пищевых продуктов этим микотоксином и высокой частотой рака пищевода в Транскейе [Marasas W. et al., 1979]. Например, из кукурузы, отобранной в этом регионе, был выделен штамм F. moniliforme, продуцирующий до 11,3 г токсина на 1 кг субстрата. В исследованиях P. Thiel (1982), проведенных в Транскейе, также был выявлен высокий уровень поражения кукурузы F. moniliforme. Монилиформин обнаружили в 42% образцов неинфицированной кукурузы в количестве 2,1 мг/кг и в 92% образцов кукурузы, пораженной грибами, в концентрации 10,9 мг/кг.

Фузариоцины и фузарины. В изолятах F. moniliforme, выделенных в Японии, обнаружены метаболиты с выраженными цитотоксическими свойствами — фузариоцины A и C, LD_{50} которых при внутрибрюшинном введении для мышей составляет соответственно 2,88 и 3,97 мг на 1 кг массы тела [Arai T., Ito T., 1970; Ito T., 1979].

L. Bjeldanes и S. Thomson (1979) при изучении токсических свойств изолятов F. moniliforme, выделенных из различных пи-

щевых продуктов и кормов, выявили, что 64% из них обладали мутагенной активностью в отношении Salmonella typhimurium TA 100. Такое действие некоторых штаммов значительно усиливалось в присутствии гомогенатов печени. В дальнейшем из штаммов F. moniliforme, обладающих мутагенными свойствами, были выделены соединения, названные фузаринами A, B, C и D, среди которых основным является фузарин C [Wiebe L., Bjeldanes L., 1981]. Его количество составляло около 0,4 г на 1 кг субстрата; молекулярная формула — $C_{23}H_{29}NO_7$. Фузарин C проявлял мутагенные свойства только после активации микросомными ферментами (препаратами печени крысы).

Бутенолид. При изучении этиологии спорадически возникающих вспышек заболевания хромотой у крупного рогатого скота и овец в США, Австралии, Новой Зеландии и Италии, была установлена его связь с употреблением овсяницы, пораженной токсигенными штаммами грибов Fusarium [Yates S., 1971]. Из одного изолята F. tricinctum был выделен водорастворимый токсический компонент, названный бутенолидом. По химической структуре его идентифицировали как γ-лактон 4-ацетамидо-4-гидрокси-2-бутеновой кислоты.

Бутенолид

В дальнейшем было показано, что продуцентами бутенолида являются также F. equiseti, F. semitectum, F. graminearum и F. lateritium [Yoshizawa T., 1983a, b]. В лабораторных условиях грибы-продуценты синтезировали и некоторые ТТМТ: Т-2-токсин, дезоксиниваленол и ниваленол. T. Yoshizawa (1983b) сообщил об обнаружении бутенолида в количестве 0,01—0,43 мг/кг в 32,4% исследованных в 1976—1982 гг. в Японии образцов пшеницы и ячменя.

Токсические свойства, метаболизм и механизм действия бутенолида изучены мало. Для мышей LD_{50} при введении внутрь составляет 275 мг на 1 кг массы тела, при внутрибрюшинном введении — 43,6 мг/кг, для куриных эмбрионов — 0,25 мкг на яйцо [Yates S., 1971; Burmeister H. et al., 1980; Mirocha C., 1983]. При введении бычкам внутрь бутенолид в дозе 68 и 39 мг на 1 кг массы тела вызывал гибель животных в течение соответственно 2 и 3 дней. При меньших дозах наблюдались петехиальные геморрагии, язвы желудка и пищевода [Tookey H. et al., 1972].

Завершая главу, необходимо подчеркнуть: 1) повсеместную распространенность грибов рода Fusarium; 2) высокую частоту обнаружения среди них токсигенных штаммов; 3) широкий диапазон оптимальных для синтеза микотоксинов температур; 4) широкий спектр продуцируемых ими токсинов.

Глава VI

Микотоксины, продуцируемые Penicillium

Среди микроскопических грибов рода Penicillium многие виды являются токсигенными и могут синтезировать весьма опасные для человека и животных микотоксины. Например, только тервертициллятные Penicillium по профилю продуцируемых ими микотоксинов подразделяют на 29 групп [Frisvad J., Filtenborg O. 1983]. Интерес к токсикологии этого рода грибов особенно возрос после обнаружения токсигенных штаммов P. islandicum, P. citrinum, P. citreo-viride, P. rugulosum и P. tardum в пожелтевшем рисе, явившимся причиной токсикозов у человека и сельскохозяйственных животных в Японии вскоре после окончания второй мировой войны [Saito M. et al., 1971; Mirocha C. et al., 1980]. Рассмотрим основные микотоксины, продуцируемые Penicillium, наиболее изученные, наиболее распространенные и представляющие реальную опасность для здоровья человека.

МИКОТОКСИНЫ PENICILLIUM ISLANDICUM

Уже первые эксперименты, проведенные со штаммами P. islandicum, выделенными из пожелтевшего риса в Японии, показали, что они обладают избирательным токсическим действием на печень, вызывая центрилобулярные некрозы и жировую инфильтрацию гепатоцитов при остром токсикозе, фиброз и пролиферацию желчных протоков при подостром действии, постнекротический цирроз и опухоли печени при хроническом воздействии. В последующем было выявлено, что гепатотоксические свойства P. islandicum связаны с его вторичными метаболитами — лютеоскирином, исландитоксином, циклохлоротином и эритроскирином [Uraguchi K. et al., 1972a; Enomoto M., Ueno I., 1974].

Лютеоскирин (8,8'-дигидроксиругулозин) является одним из 7 пигментов, выделенных из P. islandicum (кроме него: эритроскирин, исландицин, иридоскирин, скирин, руброскирин и катенарин). Это желтое кристаллическое вещество с точкой плавления 287 °C, имеет 3 максимума поглощения в ультрафиолетовом свете — при 245, 275 и 430 нм. Сведения о распространенности лютеоскирина, также как и других микотоксинов P. islandicum, практически отсутствуют. Описаны лишь единичные случаи обнаружения лютеоскирина в соевом соусе и пасте. Токсигенные штаммы P. islandicum часто выделяли из долго хранившегося риса, а также из пшеницы, муки, сои, арахиса, бобовых и некоторых видов перца [Pohland A., Mislivec P., 1976; Ueno Y., 1982]. При культивировании в лабораторных условиях изоляты P. islandicum, как правило, продуцируют лютеоскирин [Mislivec P. et al., 1979].

Лютеоскирин

Исландитоксин

Эритроскирин

Циклохлоротин

К токсическому действию лютеоскирина чувствительны мыши, кролики, крысы, обезьяны. Для самцов мышей LD_{50} при введении внутрь составляет 221 мг на 1 кг массы тела; при подкожном введении — 145, внутрибрюшинном — 40,8 и внутривенном — 6,6 мг/кг. Показано, что более высокая чувствительность к лютеоскирину самцов и молодых животных обусловлена более высокой скоростью накопления токсина в печени [Ueno I., 1977]. В опытах на мышах установлено, что при длительном введении лютеоскирин индуцирует развитие гепатом у 16,7% животных при дозе 50 мкг в день и у 84,6% — при дозе 500 мкг в день к 216-му дню. К канцерогенному действию лютеоскирина оказались также более чувствительными самцы [Uraguchi K. et al., 1972a; Ueno I. et al., 1973]. Не было выявлено мутагенных свойств у лютеоскирина с помощью теста Эймса как в присутствии, так и без добавления в среду микросом из печени крысы [Stark A. et al., 1978; Wehner F. et al., 1978]. В то же время люмилютеоскирин (продукт фотохимического превращения лютеоскирина), исландицин, хризофанол и эмодин — мономерные антрахиноны, продуцируемые P. islandicum, проявляли мутагенную активность в отношении Salmonella typhimurium в присутствии активирующей ферментной системы [Liberman D. et al., 1980; Ueno Y. et al., 1981].

С помощью ^{3}[H]-лютеоскирина было показано, что он медленно всасывается в желудочно-кишечном тракте и избирательно накапливается в печени, где локализуется главным образом в мито

хондриальной (30—50% радиоактивности) и ядерной (50%) фракций. Лютеоскирин выводится из организма с желчью (19%) и мочой (6%), всего около 25% введенной дозы за 18 дней. У самок токсин экскретировался значительно быстрее [Uraguchi K. et al., 1972b; Ueno I., 1977].

В механизме токсического действия лютеоскирина важное значение имеют ингибирование ферментов дыхательной цепи в печени, почках и миокарде, а также подавление процессов окислительного фосфорилирования [Bouhet J.-C., 1977; Ueno I., 1977]. В опытах in vitro продемонстрирована способность лютеоскирина образовывать комплексы с ДНК и ингибировать активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы [Bouhet J.-C., 1977].

Циклохлоротин — циклический пептид, содержащий хлор, белое кристаллическое вещество с точкой плавления 251 °С, имеет один максимум поглощения при 257 нм. Исландитоксин, выделенный из фильтрата культуры P. islandicum, идентичен циклохлоротину по химическим и биологическим свойствам.

Острое токсическое действие циклохлоротина на крыс и мышей характеризуется нарушением дыхания и деятельности сердечно-сосудистой системы, развитием судорог. При внутривенном введении собакам в дозе 1 мг на 1 кг массы тела он вызывает рвоту, цианоз, гипотермию и гибель в течение первых 24 ч [Enomoto M., Ueno I., 1974]. Для мышей, крыс и морских свинок LD_{50} при подкожном введении токсина составляет 0,5 мг на 1 кг массы тела, а при введении внутрь — 5 мг/кг. В печени при остром отравлении циклохлоротином наблюдаются вакуольная дегенерация гепатоцитов, геморрагии, резкое уменьшение содержания гликогена, увеличение уровня цАМФ, снижение концентрации белка в микросомах, в сыворотке крови возрастает активность аминотрансфераз [Ueno Y. et al., 1977b, c]. Так же как и лютеоскирин, циклохлоротин при длительном введении индуцирует развитие опухолей печени [Uraguchi K. et al., 1972a].

При изучении метаболизма ^{3}[H]-циклохлоротина у мышей было показано, что он локализуется главным образом в печени: уже через 30 мин в ней обнаруживается до 30% введенного количества токсина. Незначительные количества выявляются в почках (1—3%), головном мозге, жировой ткани и желчи (менее 1%). Через 24 ч в печени выявляли всего 5% введенного количества токсина, 46% выводилось с калом и 0,8% — с мочой. В гепатоцитах токсин локализовался преимущественно в цитозоле (90% количества, обнаруживаемого в печени) и в митохондриях [Ueno Y. et al., 1977b, c].

Биохимические проявления острого токсического действия циклохлоротина на ранних стадиях характеризуются значительным нарушением углеводного обмена, подавлением синтеза гликогена в печени за счет ингибирования активности гликогенсинтетазы и активирования глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы. Увеличение активности глюкозо-6-фосфат — дегидрогеназы печени может сопровождаться возрастанием уровня внутриклеточного NADPH и уси-

лением синтеза липидов, что также характерно для интоксикации циклохлоротином. В печени одновременно снижается скорость включения аминокислот в белки. На более поздних стадиях интоксикации подавляется активность микросомных монооксигеназ — деметилазы амидопирина и анилингидроксилазы. Определенную роль в токсическом действии циклохлоротина могут играть подавление процессов окислительного фосфорилирования в печени, а также нарушение структурных и функциональных свойств клеточных мембран и процессов регуляции их проницаемости [Ueno Y. et al., 1977c, 1978].

Эритроскирин также является токсическим метаболитом P. islandicum, с наличием которого связывают токсические свойства пожелтевшего риса [Saito M. et aL., 1971; Ueno Y. et al., 1975]. Он представляет собой кристаллическое вещество оранжево-красного цвета с точкой плавления 130°—133°С, имеет два пика поглощения — при 260 и 409 нм.

По своим токсическим свойствам эритроскирин близок к лютеоскирину. При внутрибрюшинном введении LD_{50} для мышей составляет 60 мг на 1 кг массы тела. Он вызывает развитие центрилобулярных некрозов в печени, поражение лимфатических узлов, селезенки и вилочковой железы [Ueno Y., Enomoto M., 1971].

Ругулозин — микотоксин, продуцируемый P. rugulosum, P. brunneum и P. tardum, по химической структуре и биологическим свойствам очень близок к лютеоскирину. От последнего его отличает только отсутствие гидроксильной группы С-8,8′. Ругулозин часто обнаруживают в различных пищевых продуктах [Enomoto M., Ueno I., 1974]. Острое токсическое действие этого токсина характеризуется преимущественным поражением печени (центрилобулярные некрозы, жировая дегенерация гепатоцитов), а хроническое — развитием гепатоцеллюлярных карцином. Однако его канцерогенные свойства примерно в 10 раз менее выражены, чем у лютеоскирина [Sato N. et al., 1977]. LD_{50} ругулозина для мышей при внутрибрюшинном введении составляет 55 мг на 1 кг массы тела, для крыс — 44 мг/кг; при введении внутрь для мышей — более 4000 мг/кг [Ueno Y. et al., 1980].

ЦИТРЕОВИРИДИН

Цитреовиридин — микотоксин, обладающий нейротоксическими свойствами, был впервые выделен в 1947 г. Y. Hurata и соавт. из культуры P. citreo-viride, изолированной из пожелтевшего риса. Он представляет собой желтое кристаллическое вещество с точкой плавления 107—111 °С, имеет 4 максимума поглощения — при 388, 294, 286 и 234 нм, обладает флюоресценцией в ультрафиолете. На основном природном субстрате — рисе — максимальное токсинообразование наблюдается при 12—22°С [Uraguchi K., 1971; Ueno Y., Ueno I., 1972; Ueno Y., 1972].

Цитреовиридин

В клинической картине острого и подострого отравления цитреовиридином преобладают симптомы поражения ЦНС и сердечно-сосудистой системы [Datta S., Ghosh J., 1979]. LD_{50} для мышей составляет: при введении внутрь — 29 мг на 1 кг массы тела, при подкожном — 11 и при внутрибрюшинном — 7,5 мг/кг. Для крыс LD_{50} при подкожном введении составляет 3,6 мг/кг [Ueno Y., Ueno I., 1972]. При подостром действии токсин вызывает у кошек, кроме поражения ЦНС, нарушение зрения вплоть до атрофии зрительного нерва спустя год от начала эксперимента [Ueno Y., 1974]. При подкожном введении крысам токсин быстро всасывается и через 8 ч значительные его количества (до 3% введенной дозы) выявляли в печени. Через 21 ч с калом выводилось всего 3%, а через 45 ч — 1% введенной дозы. В моче токсин не обнаружен.

S. Datta и J. Ghosh [1981a, b] показали, что как при остром, так и подостром воздействии цитреовиридин подавляет активность Na^+, K^+-активируемой АТФазы синаптосом головного мозга крыс, а in vitro снижает активность Mg^{2+}- и Na^+, K^+-активируемых АТФаз микросом и синаптосом, выделенных из ткани головного мозга. При интоксикации снижается уровень гликогена в мозговой ткани, что указывает на важную роль нарушения энергетического обмена в механизме действия цитреовиридина. Предполагают, что цитреовиридин поражает прежде всего холинергическую систему, так как и in vivo и in vitro он ингибировал активность холинэстеразы синаптосом головного мозга.

Следует особо отметить факт ингибирования цитреовиридином активности тиаминдифосфатзависимой транскетолазы и пиридоксинзависимых аминотрансфераз печени [Datta S., Ghosh J., 1979, 1981b], поскольку этот микотоксин может играть определенную роль в этиологии кардиальной формы бери-бери — заболевания, обычно рассматриваемого как В-авитаминоз [Uraguchi K., 1969; Ueno Y., 1974]. В пользу данной гипотезы свидетельствуют, во-первых, особенности клинической картины — острое начало и молниеносное (в течение 2—3 дней) течение, трудно объяснимое с позиций витаминной обеспеченности организма; во-вторых, совпадение клинических признаков заболевания с проявлениями у млекопитающих экспериментального микотоксикоза, вызванного цитреовиридином; в-третьих, распространенность заболевания среди населения, основным пищевым продуктом которого является рис (страны Азии); в-четвертых, наличие характерных для микоток-

сикозов колебаний заболеваемости в зависимости от изменения климатических условий и сезона года; в-пятых, резкое уменьшение частоты заболевания в Японии с 1910 г. после введения системы контроля за качеством риса, задолго до широкого внедрения в лечебную практику витаминных препаратов группы В

ЦИТРИНИН

Цитринин был впервые выделен из культуры P citrinum в 1931 г. H. Raistrick и A. Hetherington. Именно P. citrinum являлся одним из основных видов грибов, выделенных из пожелтевшего риса. В последующем было показано, что цитринин может образовываться 14 видами Penicillium и некоторыми видами Aspergillus, в частности P. implicatum, P. lividum, P. citreo-viride, P. notatum, P. expansum, A. terreus. A. niveus, A. candidus и др. [Saito M. et al., 1971; Wilson D., 1982; Frisvad J., Filtenborg O., 1983].

Цитринин представляет собой кристаллическое вещество желтого цвета с точкой плавления 170 °—171 °С.

Цитринин

Цитринин довольно часто обнаруживают в качестве природного загрязнителя продовольственного сырья и кормов: различных видов зерновых (пшеницы, ячменя, овса, ржи) в концентрации 0,007—100 мг/кг в США, Канаде, Польше, Австрии, Дании; в Индии он найден в арахисе, в Японии — в кукурузной муке [Subrahmanyam P., Rao A., 1974; Wilson D., 1982; Chelkowski J., Golinski P., 1982; Schuh M. et al., 1982; Nishijima M., 1983]. В незначительных количествах цитринин обнаружен в хлебо-булочных изделиях, мясных продуктах и фруктах [Cooper S. et al., 1982]. Часто его находят в зерне вместе с охратоксином А [Lloyd W., Stahr H., 1980].

Цитринин обладает выраженными нефротоксическими свойствами и, как полагают, вместе с охратоксином А ответствен за развитие нефропатии у свиней и домашней птицы в Дании и токсикозов у крупного рогатого скота в США [Krogh P., 1978; Lloyd W., Stahr H., 1980]. Избирательное нарушение под действием цитринина структуры и функции почек подтверждено в экспериментах на свиньях и различных лабораторных животных, причем характер патологических изменений очень близок к таковому при действии охратоксина А [Friis P. et al., 1969; Jordan W. et al., 1977, 1978a, b; Phillips R. et al., 1979; Hanika C.

et al., 1983; Mehdi N. et al., 1984]. Основными клиническими симптомами интоксикации цитринином являлись полиурия, глюкозурия, протеинурия, снижение концентрации в моче Na^{+}, K^{+} и Cl^{-}, увеличение количества азота мочевины в крови. Гистологически выявлялись некротические изменения эпителия, главным образом — проксимальной части канальцев нефрона. У цыплят-бройлеров при введении цитринина патологические изменения обнаруживаются и в печени, вилочковой железе, селезенке [Berndt W. et al., 1980; Mehdi N. et al., 1981]. При внутрибрюшинном введении LD_{50} для мышей составляет 58—80 мг па 1 кг массы тела, для крыс — 67, кроликов — 50, хомячков — 66—75 мг/кг; при введении внутрь: для мышей — 105—112, кроликов — 134 и хомячкоа — 220 мг/кг [Jordan W. et al., 1977; 1978b; Hanika C. et al., 1983]. Следует отметить, что на мышей, кроликов и собак цитринин оказывает парасимпатомиметическое действие: усиливает мышечный тонус, вызывает бронхоспазм, расширение кровеносных сосудов [Saito M. et al., 1971]. Обнаружено и выраженное эмбриотоксическое действие его в опытах на мышах в куриных эмбрионах [Hood R. et al., 1976; Vesela D. et al., 1983]. В дозе 50 мкг на яйцо у 46% куриных эмбрионов токсин индуцировал различные аномалии развития конечностей; при увеличении концентрации токсина до 150 мкг па яйцо количество эмбрионов с аномалиями развития возрастало до 73% [Ciegler A. et al., 1977]. Тератогенные свойства цитринина подтверждены в в опытах на крысах [Reddy R. et al., 1982a].

Долгое время считалось, что сам цитринин не обладает канцерогенным действием, по в некоторых случаях [например, в сочетании с N-нитрозодиметиламином или N-(3,5-дихлорфенил)-сукцинимидом] проявляет свойства кокапцерогена [Shinohara Y. et al., 1976]. Оп также усиливает канцерогенное действие охратоксина А [Kanisawa M., 1983]. В то же время M. Arai и T. Hibino (1983) выявили канцерогенное действие и у самого цитринина: содержание крыс линии F344 в течение 80 нед на рационе с включением токсина в концентрации 1000 мг/кг приводило к развитию опухолей почек у 72,9% животных.

У цитринина обнаружена выраженная антибактериальная активность в отношении грамположительных бактерий [Saito M. et al., 1971].

При введении ^{14}[C]-цитринина крысам внутрь он быстро всасывался из желудочно-кишечного тракта и концентрировался в почках, а затем в убывающем количестве — в печени, мочевом пузыре, крови, легких, половых органах и селезенке, где сохранялся на высоком уровне в течение 6 ч [Dunn B. et al., 1982]. В течение первых 24 ч 74% введенного количества цитринина выводилось с мочой и 11% — в течение 48 ч с калом. Через 72 ч из организма крыс выводилось 96% токсина, а в почках, печени и плазме крови оставалось всего около 1,2% введенной дозы [Phillips R. et al., 1979]. В моче самок крыс через 24 ч после введения ^{14}[C]-цитринина были обнаружены два неидентифициро-

ванных меченых метаболита, один из которых найден и в желчи [Reddy R. et al., 1982b]. Пути биотрансформации цитринина в организме не изучены. W. Berndt и соавт. (1980) показали, что в первые 2—4 ч после его введения в почках и печени крыс резко падает уровень SH-глутатиона. Это может быть расценено как свидетельство в пользу детоксикации цитринина за счет образования конъюгатов с SH-глутатионом.

Остаются невыясненными биохимические механизмы действия цитринина. Показано лишь, что токсин в дозах 40—130 мкг на 1 мл среды подавляет синтез ДНК, РНК и белка в бактериальных и дрожжевых клетках. В опытах in vitro он также ингибировал активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы клеток эукариот и E. coli [Tashiro F. et al., 1979; Martin W. et al., 1982]. При остром токсикозе у мышей в печени наблюдалось достоверное снижение содержания ДНК (на 55% через 3 ч), а также РНК и белка (соответственно на 17 и 10% через 6 ч). Содержание ДНК и особенно РНК уменьшалось также в почках [Phillips R., Hayes A., 1978]. Представляют интерес данные о влиянии цитринина на обмен кальция — как in vivo, так in vitro он вызывал увеличение внутриклеточной концентрации кальция в почках [Berndt W. et al., 1984].

ПАТУЛИН

Патулин был впервые выделен в 1943 г. из культуры P. patulum и затем из P. expansum как антибиотик [Birkinshaw J. et al., 1943]. Он известен и под другими названиями: клавиформин, клавацин, клаватин, экспанзин, мукопин, микоин C, пеницидин, терцинин, происхождение которых связано с названиями грибов-продуцентов [Scott P., 1974]. Обнаружение у патулина высокой токсичности, мутагенных и канцерогенных свойств, а также выявление его в качестве загрязнителя пищевых продуктов заставляет отнести патулин к особо опасным микотоксинам.

По химической структуре патулин представляет собой 4-гидроксифуропиран, имеет один максимум поглощения в ультрафиолетовом свете при 276 нм. В щелочной среде патулин теряет свою биологическую активность [Wilson D., 1976]. При нагревании загрязненного патулином яблочного сока при 80 °C в течение 10—20 мин его концентрация падает на 50%. К разрушению токсина приводит и добавление аскорбиновой кислоты [Scott P., 1974; Brackett R., Marth E., 1979].

Патулин

Продуцентами патулина являются различные виды Penicillium — P. expansum, P. claviforme, P. urticae (P. patulum), P. cyclopium, P. viridicatum, P. roqueforti, и Aspergillus — A. clavatus, A. terreus, A. giganteus, а также Byssochlamys fulva и B. nivea. Максимальное токсинообразование наблюдается обычно при температуре 21°—30 С [Дончева И., 1978].

Острый токсикоз у крыс, мышей и хомячков характеризуется преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта (полнокровие, геморрагии, изъязвления). У мышей и крыс наблюдали также диффузный отек легких, полнокровие, геморрагии, иногда — некрозы печени, почек и селезенки [Hayes A. et al., 1979; McKinley E., Carlton W., 1980a, b; McKinley E. et al., 1982]. Значения LD_{50} патулина для мышей по данным разных авторов составляют: при введении внутрь — 17—36,2 мг на 1 кг массы тела; при внутрибрюшинном введении — 7,6—8,17, при внутривенном введении — 17,8—25 и при подкожном — 10—15 мг/кг [Scott P., 1974; McKinley E., Carlton W., 1980; Escoula L. et al., 1977]. Крысы линий Sprague—Dawley и Wistar также оказались более чувствительными к внутрибрюшинному введению токсина (LD_{50} 4,6—10 мг/кг), чем к его введению внутрь (LD_{50} 30,5—55 мг/кг). LD_{50} при введении внутрь для хомячков-отъемышей и цыплят составляет соответственно 31,5 и 170 мг/кг [Lovett J., 1972; McKinley E., Carlton W., 1980b]. У обезьян Macaca nemestrina, получавших патулин в дозе 5—500 мкг/кг в течение 4—6 нед не наблюдали каких-либо клинических или биохимических признаков интоксикации [Garza H. et al., 1977]. При клинических испытаниях патулина как антибиотика его введение людям внутривенно в дозе до 100 мг не давало побочных эффектов, во при его введении внутрь наблюдались тошнота и рвота [Scott P., 1974].

Патулин относят к канцерогенным соединениям, поскольку в опытах на крысах при подкожном введении в количестве 0,2 мг 2 раза в неделю в течение 61—64 нед он индуцировал фибросаркомы [Dickens F., Jones H., 1961]. В то же время, в последующих экспериментах, проведенных на крысах и мышах, не удалось подтвердить его канцерогенную активность [Osswald H. et al., 1978; Becci P. et al., 1981].

Мутагенные свойства патулина выявлены в опытах на бактериальных и дрожжевых тест-системах. В клетках HeLa он индуцировал хромосомные аберрации и разрывы ДНК, а в лимфоцитах человека усиливал частоту сестринских хроматидных обменов [Wilson D., 1976; Cooray R. et al., 1982]. При введении беременным крысам и мышам патулин оказывал эмбриотоксическое и эмбриоцидное действие, но не проявлял тератогенных и мутагенных свойств [Dailey R. et al., 1977; Reddy C. et al., 1978]. Патулин обладает высокой антибактериальной активностью широкого спектра: подавляет рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий в концентрации 2—100 мкг/мл. К его действию чувствительны некоторые виды микроскопических грибов,

простейшие, амфибии; токсин цитотоксически действует на клеточные и тканевые культуры [Дончева И., 1978; Scott P., 1974; Reiss J., 1977].

При введении ^{14}[C] патулина крысам метка локализовалась главным образом в эритроцитах, в меньших количествах — в селезенке, почках, легких и печени. Через 7 дней в тканях и крови выявляли 2—3% введенного количества токсина. В течение первых 24 ч 35% метки выводилось с калом, 36% — в виде метаболитов патулина обнаруживалось в моче и 1—2% выводилось в виде CO_2 [Dailey R. et al., 1977]. Пути превращения патулина в организме не изучены. A. Hayes и соавт. (1979) показали, что индукторы микросомных ферментных систем (фенобарбитал, 2-метилхолантрен) не влияют на течение острого токсикоза у мышей, в то время как ингибитор микросомных монооксигеназ (SKF-525 A) повышал чувствительность животных к токсическому действию токсина. Вероятно в организме патулин не подвергается метаболической активации.

Биохимические механизмы действия патулина изучены мало. В культуре лимфоцитов из периферической крови человека в концентрации выше 1 мкг/мл он вызывал полное подавление синтеза ДНК [Cooray R. et al., 1982]. При концентрации 3,2 мкг/мл патулин ингибировал синтез ДНК, РНК и белка в клетках HeLa, блокировал синтез РНК в культуре клеток гепатомы и в дрожжевых клетках [Kawasaki I. et al., 1972; Rihn B. et al., 1982; Thonart P. et al., 1982]. Y. Moulé и F. Hatey (1977) выявили, что патулин блокирует инициацию транскрипции путем ингибирования активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Токсин активно взаимодействует с SH-группами и подавляет активность тиолзависимых ферментов, что, по-видимому, играет важную роль в механизме его токсического действия. Следует отметить, что цитотоксическое, антимикробное и фитотоксическое действие патулина в значительной степени уменьшается в присутствии SH-содержащих соединений — глутатиона, цистеина, тиогликолата, дитиотреитола [Дончева И., 1978; Wilson D., 1976]. Токсичность патулина в определенной степени может быть связана с энтеротоксинемией, вызванной резким изменением микрофлоры кишечника [Osswald H. et al., 1978; McKinley E., Carlton W., 1980a, b].

Продуценты патулина поражают преимущественно фрукты и некоторые овощи. Токсин обнаружен в яблоках, грушах, абрикосах, персиках, черешне, винограде, бананах, клубнике, голубике, бруснике, облепихе, в томатах и некоторых фруктовых соках и пюре [Двали Г. Н. и др., 1985; Дончева И., 1978; Scott P., 1982]. J. Reiss (1972) выявил патулин в хлебо-булочных изделиях в концентрации до 0,2 мг/кг. Чаще, чем другие плоды патулином загрязняются яблоки. По данным разных авторов, содержание токсина в яблоках варьирует от 0,02 до 17,7 мг/кг. В ФРГ и Канаде патулин выявляли в 50% исследованных яблок, причем в отдельных случаях содержание его доходило до 18 мг/кг. В Португалии патулин обнаружили в 67% подгнивших яблок в концентрации

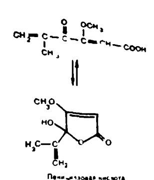
0,8—100 мг/кг [Gimeno A., Martins M., 1983]. Совместно с Г. Н Двали мы обнаружили патулин в 2 из 30 образцов яблок, в 2 из 17 — мандарин, в клубнике — в концентрации до 0,05 мг/кг; в 2 образцах ягод облепихи, сильно пораженных плесенью, содержание патулина достигало 54 мг/кг [Двали Г. Н. и др., 1985]. Следует подчеркнуть, что патулин концентрируется в основном в подгнившей части яблока, где его содержание может достигать 1,2 г/кг, в то время как в неповрежденной части определяется только около 1% общего количества токсина. Однако в томатах независимо от размеров подгнившего участка патулин распределяется равномерно по всей ткани [Frank H. et al., 1977].

Патулин в высоких концентрациях находят и в продуктах переработки фруктов и овощей. Особенно часто его обнаруживают в яблочном соке. Например, в ГДР из 416 изученных образцов яблочного сока промышленного производства патулин выявили в 143 образцах в концентрации 0,02—0,4 мг/л [Meyer R., 1978; Fritz W. et al., 1979; Thurm V. et al., 1979]; в СССР 21,7% изученных образцов этого вида сока содержали патулин (средний уровень 0,06 мг/л) [Двали Г. Н. и соавт., 1985]; в США в 48—82% изученных образцах обнаружили токсин в концентрации до 0,2 мг/л [Brackett R., Marth E., 1979]. Примерно такие же частота и уровень загрязнения яблочного сока патулином выявлены в Канаде, Норвегии, Финляндии, Франции, ФРГ, Швейцарии и Швеции. Содержание патулина в других видах соков (грушевом, айвовом, виноградном, сливовом и манго), по различным данным, колеблется от 0,005 до 4,5 мг/л [Двали Г. Н. и др., 1984; Meyer R., 1978]. Патулин обнаруживали и в других продуктах переработки фруктов и ягод — пюре, компотах и джемах [Двали Г. Н. и др., 1985; Wittkowski M. et al., 1982].

В экспериментах было показано, что цитрусовые и некоторые овощные культуры (картофель, лук, редис, редька, баклажаны, цветная капуста, тыква и хрен) обладают естественной резистентностью к заражению продуцентами патулина [Frank H. et al., 1977].

ПЕНИЦИЛЛОВАЯ КИСЛОТА

Пеницилловая кислота впервые была выделена в 1913 г. C. Alsberg и O. Black из штамма P. puberulum. Она существует в двух таутомерных формах: γ-кетокислота и γ-гидрокси лактон; имеет один пик поглощения в ультрафиолетовом свете при 227 нм [Wilson D., 1976]. Установлено, что продуцентами пеницилловой кислоты могут быть многие виды грибов рода Penicillium — P. cyclopium, P. simplicissimum, P. lividum, P. thomii, P. roqueforti, P. janthinellum, P. viridicatum, P. palitans и др., а также некоторые виды Aspergillus (A. ochraceus, A. sulphureus, A. ostianus и др.). Важно отметить, что некоторые грибы-продуценты кислоты могут синтезировать и другие микотоксины, например, патулин, охратоксин A и др. [Ciegler A. et al., 1971, 1972; Olivigni F.,



Пеницилловая кислота

Bullerman L., 1977; Frisvad J., Filtenborg O., 1983]. На природных субстратах максимальное токсинообразование наблюдается при 15—20 °C. Токсин обнаружен в качестве природного загрязнителя в кукурузе, некоторых бобовых, в кормах, табаке [Wilson D., 1976; Chelkowski J., Golinski P., 1982].

Пеницилловая кислота является гепатотропным ядом. Острое токсическое действие ее на крыс и мышей характеризуется развитием некрозов гепатоцитов, снижением содержания глутатиона в печени, резким нарушением экскреторной и детоксицирующей функций печени, возрастанием активности аминотрансфераз в сыворотке крови [Chan P. et al., 1980b; Chan P., Hayes A., 1981a, b]. Для мышей LD_{50} составляет: при внутрибрюшинном введении 90 мг на 1 кг массы тела, при подкожном — 110, при введении внутрь — 250 мг/кг; для кроликов $LD_{мин}$ составляет 100—200 мг/кг при подкожном введении [Wilson D., 1976; Chan P. et al., 1980a]

Также как патулин, пеницилловая кислота при длительном подкожном введении крысам в количестве 1 мг индуцировала развитие сарком у всех выживших животных [Dickens F., Jones H., 1961]. Антимикробные, цитотоксические и мутагенные свойства пеницилловой кислоты выражены слабее, чем у патулина. Введение микотоксина беременным мышам приводило к увеличению пренатальной смертности плодов и их резорбции [Wilson D., 1976; Hayes A., Hood R., 1978].

При изучении метаболизма ^{14}[C]-пеницилловой кислоты у мышей было показано, что первые 30 мин после внутрибрюшинного введения токсина 45% введенного количества локализуется в желудочно-кишечном тракте. Как при внутрибрюшинном, так и внутривенном введении максимальный уровень радиоактивности выявляли в почках, печени, легких, селезенке и сердце. Анализ внутриклеточного распределения пеницилловой кислоты в печени и почках показал, что в первые 20 мин 85% метки концентрируется в цитозоле, 8% — в ядрах, 3—6% — в микросомах и 1—2% — в митохондриях. Большая часть токсина выделялась из организма с мочой: 60% при внутрибрюшинном и 90% при внутривенном введении. Около 2,5% выделялось с калом и 0,35% — в виде CO_2.

При этом было установлено, что более 90% метаболитов пенициллової кислоты, определяемых в моче, являются конъюгатами с SH-глутатионом и цистеином, а 10% — с глюкуроновой кислотой [Chan P., Hayes A., 1981a, b; Chan P. et al., 1982, 1984]. P. Chan и соавт. (1980a, b; 1982) выявили, что предварительное введение мышам индукторов микросомных монооксигеназ (фенобарбитала и 20-метилхолантрена) значительно усиливает токсическое действие пенициллової кислоты, в то время как введение ингибитора монооксигеназ (SKF-525A) сопровождается снижением токсичности. Есть все основания полагать, что в печени при участии микросомных ферментов пенициллoвая кислота может подвергаться активации с образованием эпоксида, способного взаимодействовать с макромолекулами клетки. Предварительное введение животным цистеина — предшественника SH-глутатиона — оказывало выраженное защитное действие при остром отравлении пенициллoвой кислотой, в то время как введение диэтилмалеата (резко снижающего уровень SH-глутатиона в печени) значительно повышало токсичность. В опытах in vitro было показано, что пенициллoвая кислота способна взаимодействовать с SH-глутамином как ферментным, так и неферментным путем. Эти данные могут служить доказательством в пользу возможной роли процесса конъюгации пенициллoвой кислоты и ее метаболитов с SH-глутатионом как одного из путей детоксикации этого микотоксина в организме.

Биохимические механизмы действия пенициллoвой кислоты изучены недостаточно. Считают, что как и патулин, она может подавлять синтез ДНК, РНК и белка в клетках. Несомненно также, что способность пенициллoвой кислоты активно взаимодействовать с SH-группами и свободными NH_2-группами аминокислот имеет немаловажное значение в проявлении ее биологической активности [Kawasaki I. et al., 1972; Ciegler A. et al., 1972; Chan P., Hayes A., 1980a].

МИКОТОКСИНЫ PENICILLIUM VIRIDICATUM

По данным A. Pohland и P. Mislivec (1976), Penicillium viridicatum является одним из наиболее часто обнаруживаемых видов Penicillium, поражающих пищевые продукты и корма при хранении. Доказана этиологическая роль P. viridicatum в некоторых случаях алиментарных токсикозов у сельскохозяйственных животных [Stack M. et al., 1977; Leistner L., 1983]. Заслуживает внимания факт существования различий в токсических свойствах и профиле продуцируемых микотоксинов между отдельными штаммами P. viridicatum. Например, штаммы, выделенные в Дании из кормов, вызывающих развитие нефропатии у свиней, продуцировали наряду с цитринином, охратоксинами А и В и щавелевую кислоту.

Щавелевая кислота ($C_2H_2O_4$) хорошо известна как деминерализующий антиалиментарный фактор [Покровский А. А., 1979]. В кишечнике она способна образовывать практически

нерастворимые в воде соли кальция и тем самым нарушать усвоение кальция организмом. Именно реакция связывания Ca^{2+} лежит в основе механизма токсического действия щавелевой кислоты. Описаны случаи отравления людей и животных при употреблении как самой щавелевой кислоты, так и продуктов, содержащих ее в высоких концентрациях. Смертельная однократная доза для человека находится в пределах 5—150 г. Щавелевую кислоту могут продуцировать также P. oxalicum, P. expansum, P. chrysogenum и др. [Pohland A., Mislivec P., 1976].

Некоторые штаммы P. viridicatum являются продуцентами пеницилловой и микофеноловой кислот, а также гризеофульвина — малотоксичного соединения (LD_{50} для мышей при введении внутрь составляет 400 мг/кг), обладающего свойствами антибиотика и канцерогенной активностью [Pohland A., Mislivec P., 1976].

К высокотоксичным метаболитам P. viridicatum относится виридикатумтоксин, способный избирательно поражать сердечную мышцу; LD_{50} для мышей при внутрибрюшинном введении составляет всего 2,8 мг на 1 кг массы тела [Hutchison R. et al., 1973; Kabuto C. et al., 1976].

Виридикатумтоксин

Штаммы P. viridicatum, выделенные в штате Индиана (США), значительно отличались по токсигенным свойствам от штаммов, выделенных в Дании, и не синтезировали цитринин или охратоксины, а также другие известные микотоксины [Carlton W. et al., 1968]. Из этих штаммов удалось выделить пигменты, обладающие выраженными токсическими свойствами: ксантомегнин, виомеллеин, а также рубросульфин ($C_{20}H_{20}O_{10}$), виопурпурин ($C_{29}H_{20}O_{11}$) и ксантовиридикатин ($C_{26}H_{20}O_{9}$) [Stock M. et al., 1977, 1979; Stock M., Mislivec P., 1978]. В ФРГ в овсе и ячмене, пораженных P. viridicatum и явившихся причиной гибели коров, был обнаружен виомеллеин [Leistner L., 1983]. Интоксикация ксантомегнином и виомеллеином у лабораторных животных характеризовалась поражением печени и почек [Carlton W. et al., 1976; Robbers J. et al., 1978]. В опытах in vitro ксантомегнин ингибировал процесс окислительного фосфорилирования в ми-

Ксантомегнин

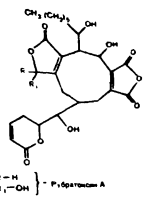
Виомеллеин

тохондриях печени крыс [Ito Y. et al., 1973; Kawai K. et al., 1983]. При длительном скармливании ксантомегнинпродуцирующей культуры P. viridicatum у мышей развивались аденомы и аденокарциномы легких [Zwicker G. et al., 1973]. Однако впоследствии K. Kawai и соавт. (1983) не подтвердили наличия канцерогенных свойств у этого микотоксина в опытах на мышах. Заслуживают внимания данные о продуцировании ксантомегнина и виомеллеина некоторыми штаммами P. cyclopium и A. ochraceus — видами грибов, обычно обнаруживаемых в кормах, которые вызывают нефропатию у свиней и домашней птицы [Robbers J. et al., 1978; Hald B. et al., 1983].

РУБРАТОКСИНЫ

Рубратоксины A и B являются вторичными метаболитами двух видов микроскопических грибов — P. rubrum и P. purpurogenum. Впервые эти микотоксины выделили R. Townsend и соавт. в 1966 г. из культуры P. rubrum, с чем и связано происхождение их названия. Позднее были установлены их структура и изучены физико-химические свойства [Moss M., 1971]. Точка плавления рубратоксинов A и B — соответственно 210°—214°C и 168—170°C, максимумы поглощения в ультрафиолетовом свете — при 252 нм для рубратоксина A и при 251 нм для рубратоксина B. Рубратоксин B имеет в своей структуре две ангидридные группы, а в рубратоксине A одна из них восстановлена.

Синтез рубратоксинов различными штаммами P. rubrum на природных субстратах был максимальным при 28—32°C. В смешанных культурах из 2—5 штаммов P. rubrum уровень токсинообразования был значительно ниже, чем в индивидуальных культурах [Emeh C., Marth E., 1976, 1977].



R—H, R1—OH } – Рубратоксин А
R,R1 = O – Рубратоксин В

Рубратоксин В значительно более токсичен, вследствие чего и более изучен, чем рубратоксин А. У рубратоксина В обнаружены выраженные гепатотоксические, эмбриотоксические, тератогенные и мутагенные свойства [Newberne P., 1974; Hayes A., 1977; Hayes A., Fedorowski T., 1982]. Острый токсикоз, вызванный этим токсином, у различных видов животных характеризуется полнокровием, геморрагиями и некрозами печени, селезенки и в меньшей степени — почек. У кошек, кроме этого, выявляют геморрагии в лимфатических узлах и асцит [Wogan G. et al., 1971]. Обращает на себя внимание факт обнаружения геморрагического синдрома у домашней птицы при вспышке микотоксикоза, связанного с поражением кормов P. rubrum и P. purpurogeaum [Newberne P., 1974]. LD_{50} рубратоксина В при его внутрибрюшинном введении в пропиленгликоле составляет: для крыс — 0,36 мг на 1 кг массы тела, для мышей — 2,6, для морских свинок — 0,48, для кошек — 1—1,5, для собак — более 0,5 и для цыплят — более 4 мг/кг. Эмбриотоксическое и тератогенное действие рубратоксина В неоднократно подтверждено в опытах на мышах. Среди аномалий развития у плодов преобладали мозговые грыжи, водянка головного мозга, гидронефроз [Koshakji R. et al., 1973; Evans M., Harbison R., 1977]. Не удалось обнаружить канцерогенной активности этого токсина в опытах при длительном внутрижелудочном его введении крысам в суммарной дозе до 616 мг [Wogan G. et al., 1971]. Высокой чувствительностью к токсическому действию рубратоксина В отличаются простейшие, в частности Tetrahymena pyriformis, рост которой подавлялся при концентрации токсина, равной 25 мкг/мл [Hayes A., 1977].

При внутрибрюшинном введении [14][C]-рубратоксина В мышам и крысам за 24 ч из организма выводилось 40—50% исходного количества токсина, из которых 30—35% — в виде CO_2, 6—9% — с мочой и незначительные количества — с калом [Hayes A., 1977]. По данным P. Unger и A. Hayes (1978), после однократного вве-

ения ^{14}[C] рубратоксина В крысам за 7 дней экскретировалось до 81% токсина: 42% — с мочой и 39% — с калом. Через 1 ч после введения меченого токсина максимальный уровень радиоактивности наблюдали в печени и почках. В печени в первые 30 мин все выявляемое количество токсина было локализовано в цитозоле, через 2 ч возрастал уровень радиоактивности в митохондриях, а через 24 ч в митохондриях определяли 14%, в микросомах — 4—10% и в цитозоле — 80% метки. В опытах in vitro было показано, что за метаболические превращения рубратоксина В в печени ответственны главным образом ферменты цитозоля, при участии которых образуются водорастворимые производные микотоксина [Unger P. et al., 1979].

Экспериментами in vivo и in vitro доказано, что рубратоксин В нарушает транспорт электронов в пункте III дыхательной цепи митохондрий [Hayes A., 1976; Phillips T., Hayes A., 1979]. Он также подавляет активность АТФаз в митохондриях, микросомах и синаптосомах, выделенных из почек и ткани головного мозга мышей [Desaiah D. et al., 1977]. Предполагают, что определенную роль в механизме действия этого токсина играет его способность подавлять синтез белка. При интоксикации рубратоксином в печени обнаруживают выраженную, по обратимую дезагрегацию полисом и уменьшение содержания белка. В опытах in vitro он подавлял включение ^{14}[C]-лейцина в белки [Hayes A., 1977; Siraj M., Hayes A., 1979]. Доказана способность рубратоксина В связываться с ДНК и РНК, активно образовывать аддукты с микросомами печени крыс [Watson S., Hayes A., 1981]. В опытах in vivo и in vitro рубратоксин В вызывает значительное уменьшение содержания SH-глутатиона и цитохрома Р-450 в печени, а также подавляет активность микросомных монооксигеназ и NADPH-зависимых дегидрогеназ [Siraj M., Hayes A., 1980; Watson S., Hayes A., 1982]. Предварительное введение животным фенобарбитала, цистеина и SH-глутатиона снижает токсическое действие рубратоксина В, в то время как введение 20-метилхолантрена, SKF-525 А и диэтилмалеата усиливает токсичность. Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что ферментные системы микросом, связанные с цитохромом Р-450, участвуют в образовании менее токсичных метаболитов рубратоксина В, т. е. ответственны за его детоксикацию в печени. Ферменты, связанные с цитохромом Р-448, катализируют реакции активации этого токсина, т. е. стимулируют образование более токсичных метаболитов. Важную роль в детоксикации рубратоксина В в печени играют, по-видимому, реакции его конъюгации с SH-глутатионом.

Токсические свойства рубратоксина В в существенной степени обусловлены наличием в его структуре α,β-ненасыщенного лактонового кольца. Его гидрированное производное не обладает эмбриотоксическими, тератогенными и мутагенными свойствами [Watson S., Hayes A., 1981].

Хотя рубратоксин В не был обнаружен в качестве природного загрязнителя пищевых продуктов, его продуценты часто поражают

различные зерновые, бобовые, арахис, семена подсолнечника, а также комбикорма. Описаны случаи алиментарных токсикозов у свиней, крупного рогатого скота и домашней птицы, связанные с употреблением кормов, зараженных P. rubrum [Hayes A., Fedorowski T., 1982].

ЦИКЛОПИАЗОНОВАЯ КИСЛОТА

Циклопиазоновая кислота впервые была выделена из различных штаммов P. cyclopium, полученных из ЮАР [Holzapfel C., 1968]. Позднее было показано, что она является также метаболитом P. camemberti, используемом при изготовлении сыров, и некоторых штаммов A. versicolor и A. flavus, выделенных из зерна и животных тканей [Ohmono S. et al., 1973; Purchase I., 1974; Schoch U. et al., 1983]. U. Schoch и соавт. (1983) и L. Leistner (1983) выявили, что все изученные штаммы P. camemberti при культивировании на полусинтетической среде могут продуцировать циклопиазоновую кислоту. Показано, что и многие штаммы A. flavus (28 из 54) являются продуцентами этого микотоксина.

Циклопиазоновая кислота

Циклопиазоновая кислота имеет точку плавления 245—246 °C и три максимума поглощения в ультрафиолете — при 225, 253 и 284 нм. Она обладает сильными нейротоксическими свойствами. К ее действию чувствительны крысы, мыши, цыплята и телята [Purchase I., 1974; Steyn P., Jemmali M., 1977; Dorner J. et al., 1983]. При внутрибрюшинном введении крысам этого микотоксина в дозе более 8 мг на 1 кг массы тела симптомы поражения ЦНС возникают через 5—10 мин, а спустя 2 ч животные погибают. LD_{50} для крыс при внутрибрюшинном введении составляет 2,3 мг/кг, а при введении внутрь — 36 мг/кг для самцов и 63 мг/кг для самок. Через 8—16 ч после введения токсина крысам внутрь в печени, почках, поджелудочной железе и сердечной мышце обнаруживают единичные некрозы; развивается атрофия селезенки. У телят, получавших корм, загрязненный в природных условиях циклопиазоновой кислотой, наблюдали атаксию, мышечный тре-

нор, судороги, заканчивающиеся гибелью. У цыплят, получавших с кормом этот токсин в количестве более 10 мг на 1 кг корма, обнаруживали некрозы в печени и селезенке, гиперплазию эпителия слизистой оболочки преджелудка [Dorner J. et al., 1983]. W. Gibel и соавт. (1971) при изучении свойств пенициллл, используемых в сыроделии, установили, что P. camemberti как при подкожном введении, так и при введении внутрь крысам индуцируют злокачественные опухоли.

Как природный загрязнитель циклопиазоновая кислота обнаружена в кукурузе (до 10 мг/кг), причем вместе с афлатоксином B_1 (0,05—2 мг/кг) [Gallagher R. et al., 1978], в арахисе (0,032—6,52 мг/кг) и также одновременно с афлатоксином B_1 [Lansden J., Davidson J., 1983]. U. Schoch и соавт. (1983) выявили циклопиазоновую кислоту в сырах: в 2 из 9 образцов сыра из Франции (0,25—0,37 мг/кг) и в одном из 5 образцов сыра из Швейцарии (0,08 мг/кг).

МИКОТОКСИНЫ PENICILLIUM ROQUEFORTI

P. roqueforti, широко используемый в пищевой промышленности при изготовлении определенных сортов сыра, оказался продуцентом некоторых высокотоксичных метаболитов: PR-токсина, рокфортина, изофумигаклавина A, эремофортинов A, B, C и D, микофеноловой кислоты и ботриодиплодина [Wei R.-D. et al., 1973; Scott P. et al., 1976; Moreau S. et al., 1976, 1977; Schoch U. et al., 1983]. Некоторые штаммы P. roqueforti могут продуцировать патулин и пенициловую кислоту. Токсигенные штаммы этого вида грибов были выделены из сыров, джема, мяса, ячменя и кормов, бывших причиной алиментарных микотоксикозов у сельскохозяйственных животных [Still P. et al., 1972; Scott P. et al., 1977; Polonelli L. et al., 1978; Veselý D. et al., 1981].

CH_3COO ... O

PR-токсин

CH_2 CH_3 CH_3 O NH N H N CH N N H

Рокфортин

При культивировании P. roqueforti на полусинтетической среде максимальное количество PR-токсина синтезировалось при 24—27 °C, *рокфортина* — *при* 25 °C, а *изофумигаклавина* A — *при* 15 °C. S. Moreau и соавт. (1980) доказали, что эримофортины являются предшественниками PR-токсина в процессе его биосинтеза: эремофортин B→эремофортин A→эремофортин C, который превращается либо в эремофортин D, либо PR-токсин.

По своей структуре PR-токсин является терпеноидом, активность которого в значительной степени связана с наличием альдегидной группы [Wei R.-D. et al., 1975, Moule Y. et al., 1977, Moreau S. et al., 1980]. Острое токсическое действие PR-токсина у лабораторных животных характеризуется нарушением координации движений, вялыми параличами, нарушением дыхания; у кошек наблюдаются снижение артериального давления, аритмии, замедление дыхания. У погибших животных обнаруживают асцит, отек легких, мозга и почек, вакуольную дегенерацию гепатоцитов. В крови снижается содержание белка, возрастают число форменных элементов, уровень гемоглобина, холестерина и активность щелочной фосфатазы [Wei R.-D. et al., 1973; Polonelli L. et al., 1978; Chen F.-C. et al., 1982]. LD_{50} PR-токсина для крыс: при внутрибрюшинном введении составляет 11,6 мг на 1 кг массы тела, при внутривенном введении — 8,2 мг/кг, а при введении внутрь — 115 мг/кг; для мышей — 5,8 мг/кг при внутрибрюшинном введении [Chen F.-C. et al., 1982]. Его токсическое действие на куриные эмбрионы проявляется при концентрации 0,01 мкг на яйцо [Veselý D. et al., 1981]. В культуре клеток печени крысы PR-токсин в концентрации всего 10^{-6} М вызывал пикноз ядер, вакуолизацию цитоплазмы, а в концентрации 10^{-4} М — гибель клеток [Aujard C. et al., 1979]. Имеются данные о канцерогенном действии PR-токсина. Злокачественные опухоли были обнаружены у 2 из 10 крыс, получавших в течение 52 дней токсин с питьевой водой (2 мг на 100 мл). При этом у одного самца на 449-й день развивалась плоскоклеточная эпителиома, а у самки на 551-й день — саркома матки [Polonelli L. et al., 1982].

Метаболизм PR-токсина изучен мало. Предполагают, что в печени он подвергается детоксикации при участии микросомной О-деацетилазы с образованием PR-токсина-спирта, который при участии NADPH-зависимой редуктазы цитозоля превращается в эремофортин С-спирт (схема 20). PR-токсин может также непосредственно превращаться в эремофортин С (при участии цитоплазматической редуктазы), который в свою очередь подвергается О-деацетилированию с образованием эремофортина С-спирта [Cacan M. et al., 1977]. Следует отметить, что образующийся PR-токсин-спирт менее токсичен, чем PR-токсин, а эремофортин С и эремофортин С-спирт вообще не проявляли какой-либо токсичности при введении крысам в дозе 50 мг/кг. При этом только эремофортин С и его спиртовая форма могли образовывать in vitro конъюгаты с глюкуроновой кислотой [Cacan M. et al., 1978].

In vivo и in vitro показано, что PR-токсин ингибирует синтез нуклеиновых кислот и белка [Moulé Y. et al., 1976, 1977, 1980; Aujard C. et al., 1977]. In vitro токсин активно связывается с ДНК, РНК и в меньшей степени с белками. Он индуцирует образование в хроматине комплексов белок — ДНК, в которых альдегидная группа PR-токсина выполняет роль метиленовых мостиков [Moulé Y. et al., 1980]. В опытах с изолированными ядрами и полисомами из печени крыс показано, что PR-токсин подавляет

Схема 20.
Пути метаболизма PR-токсина.

PR токсин

Редуктаза цитозоля — Деацетилаза микросом

Эремофортин С — PR-токсин-спирт

Деацетилаза микросом — Редуктаза цитозоля

Эремофортин С-спирт

инициацию транскрипции и элонгацию полинуклеотидной цепи, а также ингибирует процесс трансляции [Moulé Y. et al., 1976, 1977]. Под действием этого токсина значительно снижаются дыхательный контроль и процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс, что, вероятно, связано с его повреждающим действием на митохондриальные мембраны и сукцинат-цитохром С-редуктазный комплекс [Wei Y.-H. et al., 1984].

Рокфортин и изофумигаклавин А по химической структуре являются алкалоидами. Рокфортин обладает выраженными нейротоксическими свойствами. LD_{50} для мышей при внутрибрюшинном введении составляет 15—20 мг на 1 кг массы тела. При дозе 50—100 мг/кг животные впадают в прострацию и гибнут в течение нескольких часов [Scott P. et al., 1976]. С помощью теста Эймса не удалось выявить мутагенной активности у рокфортина [Schoch U. et al., 1983]. В отличие от рокфортина изофумигаклавин А проявляет слабовыраженную биологическую активность: LD_{50} для мышей составляет 340 мг/кг [Polonsky J. et al., 1977] Оба микотоксина были обнаружены в образцах сыра в Ка-

дале и некоторых странах Европы: рокфортин в количестве 0,06—6,8 мг/кг, а изофумигаклавин А — до 4,7 мг/кг [Scott P. et al., 1977]. G. Ware и соавт. (1980) обнаруживали рокфортин во всех 12 изученных ими образцах голубого сыра, изготовленного в США, в концентрации 0,16—0,65 мг/кг, а также во всех 13 изученных образцах различных сыров из Дании, Франции, Италии и Швейцарии в количестве 0,2—2,3 мг/кг [Schoch U. et al., 1983]. R. Cole и соавт. (1983) описали случай отравления людей, вызванного пивом, из которого был выделен штамм P. crustosum, продуцирующий рокфортин, изофумигаклавин А и фестиклавин.

Микофеноловая кислота обладает антибиотической активностью по отношению к бактериям, микромицетам и вирусам. Она применяется в клинике для лечения псориаза и некоторых злокачественных новообразований [Brewin T. et al., 1972; Spatz S. et al., 1978]. Ее продуцентами наряду с P. roqueforti являются P. stoloniferum, P. brevi-compactum, P. bialowiesense и P. viridicatum [Wilson B., 1971; Lafont P., Debeaupuis J., 1982]. LD_{50} для мышей составляет 550 мг на 1 кг массы тела при внутривенном введении и 2500 мг/кг при введении внутрь. Для крыс LD_{50} при введении внутрь составляет 700 мг/кг, а при введении в дозе 30 мг/кг явления интоксикации развиваются лишь спустя 5—7 нед и животные гибнут. У обезьян при введении этого микотоксина в дозе 150 мг/кг через 2 нед развивалась анемия. Для куриных эмбрионов LD_{50} составляет 1 мкг на яйцо [Lafont P. et al., 1979a]. Получены данные о мутагенной активности микофеноловой кислоты [Wehner F. et al., 1978]. В основе механизма ее действия, как полагают, лежат ингибирование синтеза нуклеиновых кислот, подавление активности ферментов биосинтеза пуриновых нуклеотидов — IMP-дегидрогеназы и GMP-синтетазы [Sweeney M. et al., 1972]. Одним из путей детоксикации в печени является образование конъюгатов с глюкуроновой кислотой. Микофеноловая кислота была обнаружена в некоторых образцах сыров, взятых из торговой сети, в количестве более 10 мг/кг, что позволяет отнести ее к микотоксинам, представляющим опасность для здоровья человека [Lafont P. et al., 1979].

Ботриодиплодин, впервые выделенный из культуры Botryodiplodia theobromae Pat., продуцируется и P. roqueforti [Moreau S. et al., 1981; Schoch U. et al., 1983]. По структуре этот токсин является 2-гидрокси-3-метил-4-ацетилтетрагидрофураном, обладает мутагенной активностью [Douce C. et al., 1982]. В культуре клеток млекопитающих он подавляет синтез РНК и белка в концентрации 10^{-6}—10^{-5} М, а в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М необратимо ингибирует синтез ДНК [Moulé Y. et al., 1981].

ТРЕМОРГЕННЫЕ МИКОТОКСИНЫ

Группу так называемых треморгенных микотоксинов (ТГМ) составляют вторичные метаболиты различных видов Penicillium, а также отдельных видов Aspergillus. Эти метаболиты избира-

тельно поражают ЦНС. Большинство из них по химической структуре относится к индолам и содержит один или более атомов азота. Именно этот признак положен в основу подразделения ТГМ на 3 группы: А — с одним атомом азота в молекуле (основные представители — пенитремы); В — с тремя (веррукулоген и фумитреморгины), С — с четырьмя атомами (триптоквивалин и триптоквивалон) [Ciegler A. et al., 1976]. Однако в эту классификацию не включены позднее открытые фумигаклавины с двумя атомами азота в молекуле, а также фумитоксины и территремы, не содержащие азот. Основные физико-химические свойства ТГМ суммированы в табл. 29.

Основными представителями ТГМ группы А являются пенитремы А, В, С, D и Е. Пенитрем А был впервые выделен из двух штаммов P. cyclopium, обнаруженных в кормах, которые вызвали отравление у овец и лошадей [Ciegler A. et al., 1976]. Впоследствии было показано, что продуцентами пенитремов и в первую очередь пенитрема А являются также P. palitans, P. crustosum, P. puberulum, P. janthinellum, P. commune, выделенные из различных кормов, зерновых продуктов, семян хлопчатника, некоторых пищевых продуктов, пастбищных трав и почвы [Patterson D. et al., 1979; Wagener R. et al., 1980; Kyriakidis N. et al., 1981; Mantle P., Wertheim J., 1982]. Имеется сообщение об обнаружении пенитрема А в сыре, вызвавшем отравление у собак [Arp L., Richard J., 1979]. В клинической картине острого отравления пенитремами преобладают симптомы поражения нервной системы, среди которых постоянным и наиболее рано выявляемым является мышечный тремор. Минимальное количество пенитрема А, вызывающее тремор у мышей, составляет при внутрибрюшинном введении 0,19 мг на 1 кг массы тела, а у овец при внутривенном введении — 0,02 мг/кг [Sobotka T. et al., 1978; Penny R. et al., 1979]. К нейротоксическому действию пенитремов чувствительны мыши, крысы, кролики, морские свинки, хомячки, собаки, цыплята, крупный рогатый скот, овцы и лошади. Для мышей LD_{50} пенитремов А и В составляет соответственно 1,05 и 5,84 мг/кг. Пенитрем С малотоксичен. У мышей уже через 5 мин после внутрибрюшинного введения пенитрема А в дозе 2,5 мг/кг появляется тремор, который продолжается в течение нескольких часов и переходит в клонические и тетанические судороги, заканчивающиеся гибелью животных. У выживших особей в течение 72 ч повторяются приступы судорог. К характерным симптомам следует отнести учащение дыхания, слезотечение, отсутствие роговичного рефлекса, расширение зрачков. В печени мышей при остром и подостром отравлении значительно снижается содержание ДНК, возрастает концентрация липидов, в то время как уровень РНК и белка не изменяется. У крыс пенитрем А в той же дозе приводит к развитию генерализованного тремора, спастических параличей, нарушению координации движений (движение по кругу). У выживших животных в течение 2—3 нед движения остается затрудненными [Purchase I., 1974; Norris P. et al., 1980].

Таблица 29. Основные физико-химические свойства треморгенных микотоксинов

Микотоксин	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Точка плавления, °C	Максимумы поглощения в ультрафиолете, нм (ε)	Авторы, год
Пенитрем A	$C_{37}H_{44}NO_6Cl$	633	237—239	295 (11600); 233 (37000)*	A. Ciegler и соавт., 1976
Пенитрем B	$C_{37}H_{45}NO_5$	583	185—195	286 (13100); 227 (38450)	То же
Янтитрем A	$C_{37}H_{47}NO_6$	601	—	—	R. Gallagher и соавт., 1980
Янтитрем B	$C_{37}H_{47}NO_5$	585	—	228 (15420); 258 (25170); 265 (27300), 329 (16660)*	То же
Янтитрем C	$C_{37}H_{47}NO_4$	569	—	—	То же
Фумигаклавин C	$C_{23}H_{30}N_2O_2$	366	190	225; 277; 283; 292*	R. Cole и соавт., 1977
Веррукулоген	$C_{27}H_{33}N_3O_7$	511	233—235	226 (47500); 277 (11000); 295 (9700)	A. Cieglor и соавт., 1976
Фумитреморгин A	$C_{32}H_{41}N_3O_7$	579	206—209	225 (31700); 278 (5300); 296 (4900)	M Yamazaki и соавт., 1980
Фумитреморгин B	$C_{27}H_{33}N_3O_5$	479	211—212	—	То же
Триптоквивалин	$C_{29}H_{30}N_4O_7$	546	153—155	228 (37000); 275 (8550); 305 (3800); 317 (3040)	A. Ciegler и соавт., 1976
Триптоквивалон	$C_{26}H_{24}N_4O_6$	488	202—204	234 (34950); 292 (9550); 320 (6300)	То же
Фумитоксин A	$C_{31}H_{42}O_8$	542	199—200	320 (13400); 334 (21700); 348 (19800)	J. Debeaupuis, P. Lafont, 1978
Территрем A	$C_{28}H_{30}O_9$	510	288—290	219 (43000); 338 (19600)*	K. Ling и соавт., 1982
Территрем B	$C_{29}H_{34}O_9$	526	200—203	219 (39000); 331 (18400)	То же
Территрем C	$C_{28}H_{32}O_9$	512	—	219 (36000); 344 (18800)*	K. Ling и соавт., 1984

* В метаноле, в остальных случаях — в этаноле.

У собак пенитрем А вызывает генерализованный мышечный тремор, гиперкинезию, атаксию, клонические судороги. Близкую клиническую картину наблюдали и у других видов животных (морских свинок, телят) [Hayes A. et al., 1976; Arp L., Richard J., 1979, 1981].

К этой же группе А будет правильным, по-видимому, отнести янтитремы, паспалинин и паксилин.

Янтитремы А, В и С (см. табл. 29) были выделены из штаммов P. janthinellum, вызывающих токсикозы у травоядных животных. При анализе 21 изолята P. janthinellum, выделенных из почвы и травяного покрова, более 50% оказались токсигенными. Янтитрем В вызывал тремор у мышей при внутрибрюшинном введении в дозе 0,2 мг на 1 кг массы тела [Gallagher R. et al., 1980].

Треморгенное действие обнаружено у паксилина — метаболита P. paxilli. Его молекулярная формула $C_{27}H_{33}NO_4$. Он отличается относительно низкой токсичностью: LD_{50} для мышей — 150 мг/кг; ED_{50}, вызывающая тремор, 25 мг/кг. У овец тремор развивается в течение первых 20 мин после внутривенного введения паксилина в дозе всего 0,043 мг/кг [Steyn P., Jemmali M., 1977; Gallagher R. et al., 1977].

Паспалинин ($C_{32}H_{39}NO_5$) — треморген, продуцируемый Claviceps paspali. В отличие от других микотоксинов этой группы он вызывает у животных структурные изменения в мозжечке, головном и спинном мозге [Ciegler A. et al., 1976; Cole R. et al., 1977].

К группе В ТГМ относятся индольные соединения — фумитреморгины и веррукулоген. Веррукулоген (TR-1-микотоксин)

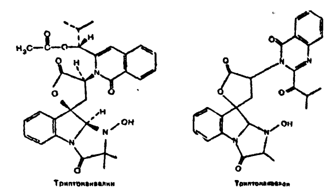
Фумитреморген А

Веррукулоген

был впервые выделен из культуры P. verruculosum [Ciegler A. et al., 1976]. Продуцентами являются также P. piscarium, P. caespitosum, P. piceum, P. nigricans (P. janczewskii), P. raistrickii, P. janthinellum и P. simplicissimum, выделенные из кормов, пастбищных трав и почвы [Patterson D. et al., 1981; Mantle P., Wertheim J., 1982]. Веррукулоген обладает выраженным треморгенным действием и вызывает тремор у овец и свиней при внутривенном введении в дозе всего 0,005—0,015 мг/кг. Увеличение дозы

приводит к гибели животных. Для мышей LD_{50} при внутрибрюшинном введении составляет 2,4 мг на 1 кг массы тела, а при введении внутрь — 126,7 мг/кг; ED_{50}, вызывающая тремор, равна 0,4 мг/кг [Ciegler A. et al., 1976; Peterson D. et al., 1982]. У крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов из веррукулогенпродуцирующих грибов через 5—30 мин появлялся тремор, переходивший в клонические судороги, животные погибали в течение 2 ч [Norris P. et al., 1980]. При внутривенном введении крысам ^{14}[C]-веррукулогена через 5 мин метку выявляли в печени, почках, сердечной и скелетных мышцах, в ткани головного мозга и мозжечке; через 25 мин — главным образом в печени и желчи. В печени токсин подвергается восстановлению с образованием дезоксиверрукулогена, который превращается в соединение TR-2 ($C_{22}H_{27}N_3O_6$) и выводится из организма с калом в виде изомера TR-2 [Perera K. et al., 1982].

Фумитреморгины А и В — близкие по структуре к веррукулогену соединения, продуцируемые главным образом грибами вида Aspergillus fumigatus. Иногда фумитреморгин В выявляли вместе с веррукулогеном в качестве метаболитов P. piscarium и P. raistrickii, а фумитреморгин А — также вместе с веррукулогеном в культурах P. janthinellum и P. janczewskii [Lanigan G. et al., 1979; Yamazaki M., 1979; Yamazaki M. et al., 1980; Patterson D. et al., 1981]. К нейротоксическому действию фумитреморгинов чувствительны мыши, крысы, кролики и овцы. Оба токсина в дозе 5 мг приводят к гибели мышей в течение 96 ч. Введение фумитреморгина А внутрибрюшинно мышам в дозе 0,3 мг на 1 кг массы тела вызывает тремор и судороги через 5—10 мин и гибель животных через 60—90 мин. LD_{50} фумитреморгина А для мышей при внутривенном введении составляет 0,185 мг/кг [Reid C. et al., 1978; Yamazaki M., 1979; Yamazaki M. et al., 1980].



Триптоквивалин   Триптоквивалон

Триптоквивалин и триптоквивалон являются тетрапептидами и входят в группу С ТГМ. Продуцент этих микотоксинов — A. clavatus — был выделен из заплесневелого риса,

вызвавшего пищевое отравление у людей [Ciegler A. et al., 1976]. Введение триптоквивалина и триптоквивалона растущим крысам в дозе 500 мг/кг приводило к мышечному тремору, который наблюдался в течение 5 дней, а на 8-й день животные погибали без каких-либо патологических изменений внутренних органов.

Различные штаммы A. fumigatus, кроме фумитреморгинов, могут синтезировать и другие метаболиты, обладающие треморгенными свойствами. R. Cole и соавт. (1977) выделили из заплесневелого силоса штамм A. fumigatus, продуцирующий два азотсодержащих алкалоида — фумигаклавины А и С (см. табл. 29). Для однодневных петушков LD_{50} основного токсина — фумигаклавина С — при введении внутрь составляла 150 мг/кг, а LD_{100} фумигаклавина А — 125 мг/кг. Для острого токсического действия этих микотоксинов характерны гиперкинезия, нарушение координации движений и гибель животных в течение 48—72 ч.

J. Debeapuis и P. Lafont (1978) среди метаболитов токсигенных штаммов A. fumigatus, выделенных из кукурузы, обнаружили четыре ТГМ, стероиды по структуре, получившие название фумитоксинов А, В, С и D (см. табл. 29). Основным из них является фумитоксин А, а фумитоксины С и D синтезируются в минимальных количествах. Для куриных эмбрионов LD_{50} фумитоксинов А, В, С и D составляет соответственно 0,2; 1,5; 1,5 и 0,2 мкг на яйцо. В концентрации $8 \cdot 10^{-6}$ М они оказывают цитотоксическое действие на культуры клеток млекопитающих.

На Тайване при изучении микофлоры риса после его длительного хранения из 206 выделенных представителей рода Aspergillus 11 изолятов A. terreus продуцировали соединения, вызывающие судорожный синдром у мышей. Они получили название территремы А, В и С (см. табл. 29). В молекуле территремов, также как и фумитоксинов, отсутствует азот [Lign K. et al., 1979, 1982, 1984].

Единичные исследования посвящены изучению биохимических механизмов действия ТГМ. Обнаружено, что при острой интоксикации фумитреморгинами резко увеличивается содержание серотонина и снижается концентрация γ-аминомасляной кислоты в ткани головного мозга. Треморгенный эффект усиливался при введении ингибиторов моноаминоксидазы и значительно уменьшался при предварительном введении п-хлорфенилаланина, снижающего концентрацию серотонина в мозговой ткани [Yamazaki M., 1979]. Показано также, что веррукулоген в низких дозах стимулировал спонтанное высвобождение нейротрансмиттеров — глутамата и аспартата, в боковом желудочке и подкорковой зоне, а в высоких дозах этот эффект наблюдался и в синаптосомах коры головного мозга крыс [Norris P. et al., 1980; Peterson D. et al., 1982]. Аналогично действовал пенитрем А. Вероятно, благодаря неполярности молекул, ТГМ могут относительно легко преодолевать гематоэнцефалический барьер и быстро достигать синапсов, где они нарушают процесс высвобождения нейромедиаторов и тем самым блокируют механизмы регуляции мышечной активности.

Возможно, что ТГМ играют этиологическую роль в возникновении некоторых неврологических заболеваний сельскохозяйственных животных, например, так называемого «рейграссового шатания», широко распространенного у овец и крупного рогатого скота в Австралии, Новой Зеландии и других странах [Reid C. et al., 1975; Gallagher R. et al., 1980; Patterson et al., 1981; Mantle P., Wertheim J., 1982; Dorner J. et al., 1984].

В заключении хотелось бы обратить внимание читателей на существенный разрыв между числом известных ТГМ и количеством сведений о них. Будущие исследования помогут ответить на многие вопросы и оценить степень опасности микотоксинов Penicillium для здоровья человека.

Глава VII

Микотоксины, продуцируемые другими микроскопическими грибами

Кратко остановимся на характеристике многочисленных и хорошо известных эрготоксинов и эргохромов, продуцируемых Claviceps purpurea; а также на описании большой группы мало изученных пока токсинов Alternaria и микотоксинах Pithomyces chartarum.

МИКОТОКСИНЫ CLAVICEPS PURPUREA

Отравление склероциями Claviceps purpurea, загрязняющими зерновые продукты, является самым древним из известных микотоксикозов человека и животных. Клиническая картина интоксикации (эрготизма), свойства грибов-продуцентов и синтезируемых ими токсических метаболитов, а также их биологическая активность неоднократно были предметом детального обсуждения в фундаментальных работах обзорного характера [Саркисов А. Х., 1954; Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Bove F., 1970; Berde B., Schield H., 1978; Floss H., Anderson J., 1980; Franck K., 1980, и др.]. Мы лишь кратко суммируем основные сведения об эрготоксинах и эргохромах и попытаемся дать оценку степени их опасности для здоровья человека.

Cl. purpurea поражает многие (более 150 видов) дикорастущие и культурные злаковые растения, в том числе рожь, ячмень, овес и пшеницу. Описаны случаи поражения Cl. purpurea кукурузы. В склероциальной стадии этот вид гриба становится высокотоксичным для человека и животных. Токсическим «началом» рожков спорыньи (склероциев) является большая группа алкалоидов, химическая структура и свойства которых хорошо изучены. По химической структуре они подразделяются на производные лизергиновой кислоты и клавиновые алкалоиды. К первой группе относится около 30 соединений, в частности, лизергиновая и изолизергиновая кислоты, их амиды (эргин и эргинин) и другие простые производные, такие как L-2-пропаноламид лизергиновой кислоты (эргометрин). В эту же группу входят и пептидсодержащие производные лизергиновой кислоты: эрготамин, эргозин, эргосекалин, эргокристин, α- и β-эргокриптины, эргостин и др. Вторую группу составляют клавиновые алкалоиды, выделенные из сапрофитных культур Cl. purpurea (более 20 соединений, такие как агроклавин, элимоклавин, сетоклавин, пироклавин и др.), а 6,7-секоэрголены, или хеноклавины (более 10 соединений, такие как хеноклавины I и II, норхеноклавины I и II, паликлавин, паспаклавин и др.). Из склероциев Cl. purpurea выделена также группа так называемых эргохромов. Это соединения

светло-желтого цвета, представляющие собой по химической структуре 2,2'- или 4,4'-димеры моноксантонов; их обозначают А, В, С и D. Основными из них являются эргохромы АА, ВВ, АВ (4,4') — соответственно секалоновые кислоты А, В и С — и СС [2,2'] (эргофлавин).

Лизергиновая кислота

Изолизергиновая кислота

Эрготамин

Агроклавин

Эргофлавин — эргохром СС (2,2')

Некоторые из перечисленных выше эрготоксинов обнаруживают в качестве природных загрязнителей продовольственного зерна и продуктов его переработки. В Канаде во ржи урожая 1978—1979 гг. общее содержание алкалоидов варьировало от 0,011 до 0,452%, основным из них оказался эрготамин. В меньших концентрациях определяли эргокристин, эргометрин, эргозин, эргокорнин и эргокриптин [Young J., 1981]. В Великобритании в урожае озимой пшеницы 1978 г. в одном из северных районов

содержание склероциев спорыньи составляло 2% массы собранного зерна. До 46% суммарного количества обнаруженных в нем эрготоксинов приходилось на эрготамин [Osborne B., Watson R., 1980]. При исследовании 14 образцов пшеничной и ржаной муки во всех из них выявили алкалоиды спорыньи: эрготамин в концентрации до 36,9 мкг/кг, эргокристин — 2,7—62,2, эргокорнин — 0,6—7,9, α-эргокриптин — 0,8—10,3, эргометрин и эргозин — 0,4—10,8 мкг/кг [Scott P., Lawrence G., 1980]. В процессе выпечки хлеба из загрязненной муки эрготоксины в пшеничном хлебе разрушаются полностью, а в ржаном — на 85%. Показано, что в измельченных склероциях в процессе хранения содержание алкалоидов значительно снижается [Scott P., Lawrence G., 1982].

Эрготоксины обладают выраженной биологической активностью. Вызываемые ими эффекты с определенной степенью условности можно разделить на периферические (сокращение гладкой мускулатуры, в том числе кровеносных сосудов и матки — сосудосуживающее и утеротропное действие), нейрогормональные (блокирование действия адреналина и серотонина) и центральные (галлюциногенное действие, ингибирование секреции пролактина, рвота, гипертермия, гипергликемия, учащение дыхания и др.). Благодаря этим свойствам некоторые алкалоиды широко применяются в фармакологической практике [Van Rensburg S., Altenkirk B., 1974; Floss H., Anderson J., 1980].

Отравление спорыньей (эрготизм) возникает при поступлении в организм склероциев Cl. purpurea. Анализ результатов эпидемиологических исследований прошлого свидетельствует, что при содержании склероциев в зерне более 2% по массе возможно развитие массовых заболеваний эрготизмом. Эрготизм может протекать в двух клинических формах — конвульсивной и гангренозной. Основными симптомами гангренозной формы являются острые боли, чувство жжения в конечностях, развитие сухой гангрены, отторжение мягких тканей, а нередко и целых конечностей (чаще нижних) в местах суставных сочленений. При конвульсивной форме преобладает судорожный синдром, развиваются спастические контрактуры конечностей, судороги сопровождаются диареей, гистологически при аутопсии обнаруживают поражение задних корешков спинного мозга. Клиническая картина эрготизма неоднократно воспроизводилась в экспериментах на лабораторных и сельскохозяйственных животных при введении им некоторых эрготоксинов или склероциев Cl. purpurea. При введении внутрь чистого эрготамина в дозе 1 мг на 1 кг массы тела в день в течение 10 дней воспроизвести эрготизм удалось даже у овец, у которых это заболевание практически не выявляется [Greatorex J., Mantle P., 1973]. Следует отметить, что токсичность отдельных алкалоидов для лабораторных животных резко отличается (до 40 раз). Высокая токсичность обнаружена и у эргохромов: для мышей LD_{50} при внутрибрюшинном введении составляет около 40 мг на 1 кг массы тела [Franck B., 1980].



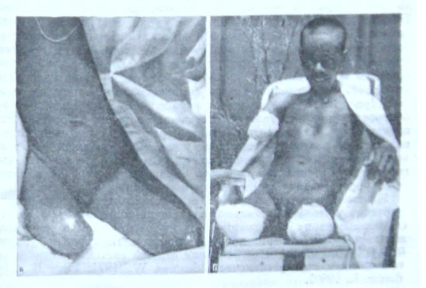


Рис. 15. Гангренозная форма эрготизма [Покровский В. И., Тутельян В. А., 1982].

а — сухая гангрена ноги; б — спонтанная ампутация ног в результате сухой гангрены; в, г — состояние после хирургической ампутации конечностей, пораженных гангреной.

Бесспорно, что эрготоксины относятся к наиболее опасным для здоровья человека микотоксинам. Однако благодаря расшифровке причин эрготизма и разработке высокоэффективных методов предупреждения заражения спорыньей злаковых культур (предпосевная химическая обработка семян, введение севооборота, использование специальных агротехнических приемов, селекционная работа, очистка пораженного склероциями зерна, например, методом флотации и др.) это заболевание практически исчезло. В то же время при определенных условиях локальные вспышки эрготизма могут возникать и в настоящее время. Такие случаи отмечались во Франции в 1951 г., Индии в 1958, 1973, 1974 и 1975 гг. [Bhat R. et al., 1976; Scott P., Lawrense G., 1980]. Совместно с В. И. Покровским мы наблюдали вспышку эрготизма в одном из регионов Центральной Африки в марте — мае 1978 г. [Покровский В. И., Тутельян В. А., 1982]. Обращали на себя внимание специфические экстремальные условия, способствующие развитию заболевания: 3-летияя засуха, неурожай, голод. При осмотре скудных запасов продовольственного зерна (главным образом, ячменя) в нескольких населенных пунктах района стихийного бедствия была обнаружена типичная картина тотального поражения его склероциями спорыньи. В очагах поражения мы выявили около 150 больных в основном с гангренозной формой эрготизма. Болезнь начиналась с головной боли, рвоты, постоянного чувства тошноты, нечастого и необильного поноса. Появлялись общая слабость, утомляемость, затем присоединялись тремор, зуд, жжение, чувство онемения конечностей, исчезала пульсация артерий и развивалась сухая гангрена пальцев ног и рук, по чаще целых конечностей. Наблюдались случаи спонтанной ампутации конечностей (рис. 15). После замены пораженного спорыньей зерна полноценным и уничтожения пораженного зерна заболеваемость прекратилась. Типичность картины поражения спорыньей дополнял падеж сельскохозяйственных животных, совпавший по времени с началом заболевания людей. Следует подчеркнуть, что поражение Cl. purpurea началось с дикорастущих трав и лишь затем распространилось на культурные злаки.

К важнейшим мероприятиям, направленным на профилактику эрготизма у человека и сельскохозяйственных животных, относятся регламентация содержания в продовольственном и кормовом зерне склероциев Cl. purpurea (для большинства стран на уровне 0,1—0,2% по массе) и организация строгой системы контроля за соблюдением этих регламентов [Seaman W., 1971; Floss H., Anderson J., 1980].

МИКОТОКСИНЫ ALTERNARIA

Все большее внимание исследователей привлекают к себе микотоксины, продуцируемые широко распространенными микроскопическими грибами рода Alternaria. Эти грибы известны как возбудители различных заболеваний у растений и очень часто

поражают зерновые культуры в поле, до сбора урожая. Токсигенные штаммы Alternaria и продуцируемые ими токсины обнаружены в сорго, зерновых культурах, семенах хлопчатника, орехах пекан, в некоторых фруктах (цитрусовые, яблоки), томатах и продуктах их переработки [Seits L. et al., 1975; Sauer D. et al., 1978; Harwig J. et al., 1979, 1980; Stinson E. et al., 1980, 1981; Wittowski M. et al., 1983]. По данным разных авторов, 33—100% штаммов Alternaria, выделенных из зерновых культур, обладали токсическими свойствами [Harvan D., Pero R., 1976; Maas M. et al., 1981].

Тенуазоновая кислота

Альтернариол

Метиловый эфир альтернариола

Альтенуен

Альтенуизол

По химической структуре микотоксины Alternaria могут быть разделены на две основные группы. Первую составляют производные ксантона: альтернариол, метиловый эфир альтернариола (МЭА), альтенуизол, альтертенуол, альтенуен, дегидроальтенузин, альтенузин, альтенуевая кислота. Главным продуцентом этой группы микотоксинов является Alternaria alternata. Ко второй группе относятся антрахиноновые пигменты: тенуазоновая кислота, альтенин, зинниол, альтернариевая кислота. Их продуцируют Alternaria solani, а также A. kikuchiana и A. zinniae. Кроме этого, из культур A. alternata и A. mali выделены два метаболита с неустановленной структурой — альтертоксины I и II (молекуляр-

ные формулы соответственно $C_{20}H_{16}O_6$ и $C_{20}H_{14}O_6$) [Chu F., 1981]. Следует подчеркнуть, что среди микотоксинов Alternaria по выраженности токсических свойств и уровню продукции выделяются альтернариол, МЭА и тенуазоновая кислота. Например, количество синтезируемых отдельными изолятами альтернариола и МЭА достигает 13% массы мицелия, а на долю альтенуизола и альтертоксинов приходится менее 0,1% [Harvan D., Pero R., 1976; Magan N. et al., 1984].

К микотоксинам Alternaria чувствительны мыши, крысы, хомячки, морские свинки, собаки, обезьяны, цыплята и гуси. Неочищенные экстракты из Alternaria вызывали гибель мышей (при внутрибрюшинном введении) и крыс (при введении внутрь) в дозе 300 мг на 1 кг массы тела. При этом у мышей отмечали нарушение структуры печени и селезенки [Harvan D., Pero R., 1976; Gupta J. et al., 1981]. Для мышей при внутрибрюшинном введении LD_{50} тенуазоновой кислоты составляет 81 мг на 1 кг массы тела, альтенуена — 75—100, альтертоксинов I и II—150, альтернариола и МЭА — более 400 мг/кг [Reiss J., 1983]. У хомячков при внутрибрюшинном введении МЭА в дозе 200 мг/кг отмечались некрозы внутренних органов [Pollock G. et al., 1982]. Длительное введение МЭА крысам внутрь в дозе до 23,4 мг/кг приводило к резкому снижению прироста массы тела, но при этом не удалось выявить каких-либо биохимических, гематологических или структурных изменений внутренних органов животных. Аналогичные результаты были получены при скармливании крысам и цыплятам корма, содержащего альтернариол, МЭА и альтенуен в количестве до 54 мг на 1 кг корма [Sauer D. et al., 1978; Pollock G. et al., 1982]. Однократная LD_{50} тенуазоновой кислоты для однодневных цыплят при введении внутрь составляет 37,5 мг на 1 кг массы тела. У цыплят, получавших тенуазоновую кислоту с кормом или внутрь, обнаруживали кровоизлияния в скелетных мышцах, подкожной жировой клетчатке, сердечной мышце, кишечнике, а также увеличение селезенки [Giambrone J. et al., 1978]. К действию тенуазоновой кислоты чувствительны и куриные эмбрионы, для которых LD_{50} составляет 0,48 мг на яйцо [Harvan D., Pero R., 1976]. В то же время, альтернариол, МЭА и альтенуен не оказывали летального или тератогенного действия на куриные эмбрионы даже в дозах до 1 мг на яйцо [Griffin G., Chu F., 1983].

Микотоксины Alternaria обладают сильными цитотоксическими свойствами. Для клеток HeLa LD_{50} альтернариола и МЭА составляет соответственно 6 и 8 мкг/мл, альтертоксинов, альтенуена и альтенуизола — 0,5—28 мкг/мл, а для тенуазоновой кислоты — 40 мкг/мл [Pero R. et al., 1973; Reiss J., 1983]. Альтернариол и МЭА подавляли рост Bacillus mycoides, а тенуазоновая кислота проявляла выраженную ингибирующую активность по отношению к некоторым бактериям и вирусам. Все токсины Alternaria обладают сильными фитотоксическими свойствами. Установлена прямая зависимость между их фитопатогенностью и токсичностью для млекопитающих [Pero R. et al., 1973; Harvan D., Pero R.,

1976]. Альтернариол в дозе 100 мг на 1 кг массы тела оказывал эмбриотоксическое действие на мышей, которое усиливалось при его одновременном введении с МЭА. Введение МЭА хомячкам внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг на 8-й день беременности приводило к уменьшению числа имплантации, увеличению случаев резорбции плодов и значительному снижению их массы. В одном случае были обнаружены аномалии развития плодов [Pollock G. et al., 1982]. С помощью теста Эймса у МЭА выявлены слабовыраженные мутагенные свойства [Scott P., Stolts D., 1980].

При изучении метаболизма ^{14}[C]-МЭА у крыс было обнаружено, что большая часть его выводится из организма с калом, менее 10% — с мочой и около 2% — с выдыхаемым CO_2. В первые 24 ч выводилось 94,1% введенного токсина. Через 24 ч высокая радиоактивность выявлялась в содержимом желудка и слепой кишки, остальное количество — в жировой ткани брюшины, печени и почках. В моче и кале наряду с неизмененным МЭА обнаружили два неидентифицированных метаболита. В опытах in vitro при инкубации с надмитохондриальным надосадком печени крыс в присутствии NADPH-генерирующей системы МЭА активно подвергался метаболическим превращениям с образованием альтернариола и нескольких полярных метаболитов, возможно, конъюгатов [Pollock G. et al., 1982].

Биохимические механизмы действия микотоксинов Alternaria не изучены. Имеются данные об ингибировании тенуазоновой кислотой биосинтеза белка in vivo (у крыс) и in vitro (в культуре клеток млекопитающих) [Carrasco L., Vazquez D., 1973; Harvan D., Pero R., 1976].

Следует отметить, что некоторые исследователи связывают с микотоксинами Alternaria (в частности, с тенуазоновой кислотой) одно из гематологических заболеваний, известное под названием Onyalai, широко распространенное среди населения Африки в районе, расположенном южнее Сахары. Из образцов проса и сорго, отобранных в домах, в которых отмечались заболевания членов семей, были выделены токсигенные штаммы Phoma sorghina, продуцирующие тенуазоновую кислоту [Rabie C. et al., 1975; Steyn P., Rabie C., 1976].

МИКОТОКСИНЫ PITHOMYCES CHARTARUM

Микотоксины Pithomyces chartarum (Sporodosmium bakeri) являются причиной так называемой фациальной экземы у овец и крупного рогатого скота. Животные заболевают в период выпаса: развивается экссудативный дерматит на участках кожи, не защищенных от света (главным образом, лицевой части). Заболевание широко распространено в Новой Зеландии, где оно известно еще с прошлого века, и в некоторых районах Австралии. Случаи фациальной экземы у овец отмечались в Южной Африке и США [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Marasas W. et al., 1972].

Токсигенные штаммы Pithomyces chartarum поражают преиму-

…естественно поврежденные растительные субстраты, их выделяли из почвы и различных пищевых продуктов [Atherton L. et al., 1974]. Pithomyces chartarum как в природных, так и лабораторных условиях продуцируют комплекс близких по структуре соединений — диоксодитиопиперазинов, названных споридесминами.

Споридесмин

Известны 5 представителей этой группы микотоксинов: споридесмин, а также споридесмины B ($C_{18}H_{20}ClN_3O_5S_2$), E ($C_{18}H_{20}ClN_3O_6S_3$), G ($C_{18}H_{20}ClN_3O_6S_4$) и H ($C_{18}H_{20}ClN_3O_4S_2$). Важно иметь в виду, что споридесмины концентрируются главным образом в спорах гриба-продуцента [Atherton L. et al., 1974].

Среди сельскохозяйственных животных к споридесминам наиболее чувствительны овцы, в меньшей степени — крупный рогатый скот; свиньи и лошади к ним не чувствительны. Среди лабораторных животных к этим микотоксинам оказались чувствительными кролики и морские свинки, в меньшей степени — крысы и мыши. У овец введение споридесмина в дозе 0,1 мг на 1 кг массы тела не вызывало каких-либо признаков интоксикации, в то время как при дозе 1 мг/кг погибало 90% животных. Такое же токсическое действие наблюдали у телят (при дозе 3 мг/кг), у кроликов и морских свинок (2—4 мг/кг), у крыс (20—30 мг/кг) и мышей (200—300 мг/кг). Высокую смертность у цыплят споридесмин вызывает в дозе 5—10 мг/кг. [Mortimer P., Taylor A., 1962, Mortimer P., 1970].

Клиническая картина фациальной экземы, также как и экспериментального микотоксикоза, вызванного споридесмином, характеризуется снижением поедаемости корма и диареей в первые 4 дня, явлениями фотосенсибилизации (воспаление и отечность незащищенных от света участков кожи, слезотечение). У животных отмечается светобоязнь, развивается желтуха [Atherton L. et al., 1974; Fagiari J. et al., 1983]. Токсическое действие споридесмина характеризуется избирательным поражением эпителия желчных протоков, которое в первые 2 дня проявляется в виде воспаления и некрозов, а позднее приводит к закупорке протоков и холестазу. Полагают, что наблюдаемое при этом нарушение процессов экскреции продуктов метаболизма, в том числе и ксенобиотиков, приводит к фотосенсибилизации животных. В ткани печени животных, отравленных споридесмином, обнаруживают очаги фиброза, в почках — геморрагии и изъязвления лоханок.

У мышей и крыс при острой интоксикации развиваются асциты и плевриты. Споридесмин как in vivo, так и in vitro подавляет синтез и транспорт желчных кислот [Kroker R. et al., 1977; Cordiner S., Jordan T., 1983]. В сыворотке крови животных при экспериментальном споридесминотоксикозе отмечаются возрастание содержания билирубина, холестерина, активности аминотрансфераз и уменьшение количества альбуминов [Билай В. И., Пидопличко Н. М., 1970; Atherton L. et al., 1974].

Споридесмины обладают сильными цитостатическими свойствами по отношению к клеткам HeLa: минимальная концентрация, при которой проявляется токсическое действие, для споридесмина E составляет всего 0,04 нг/мл, а для споридесмина и споридесминов B, G и H — соответственно 1; 3; 4 и 10 нг/мл. Минимальная доза, ингибирующая рост Bacillus subtilis, для споридесминов составляет 10—400 мкг/мл [Atherton L. et al., 1974].

Токсические свойства споридесминов связывают с наличием в структуре их молекулы дисульфидного мостика [Taylor A., 1971]. В исследованиях, проведенных с ^{35}[S]-споридесмином, показано, что этот токсин выводится из организма главным образом с желчью и мочой. У морских свинок за 96 ч с мочой выводилось 16—18%, с фекалиями — 22—25% введенного количества токсина. До 42% экскретируемого с мочой споридесмина у крыс выявляли в виде конъюгатов. В ранних работах было показано, что споридесмин как in vivo, так и in vitro нарушает структуру и функциональную активность митохондрий. Предполагают, что в основе его токсического действия лежит нарушение функции плазматических мембран [Cordiner S. et al., 1983; Cordiner S., Jordan T., 1983]. R. Munday (1982) считает, что благодаря наличию дисульфидного мостика, споридесмин может играть роль генератора супероксидного радикала O_2, накопление которого в клетках приводит к развитию патологических изменений.

Глава VIII

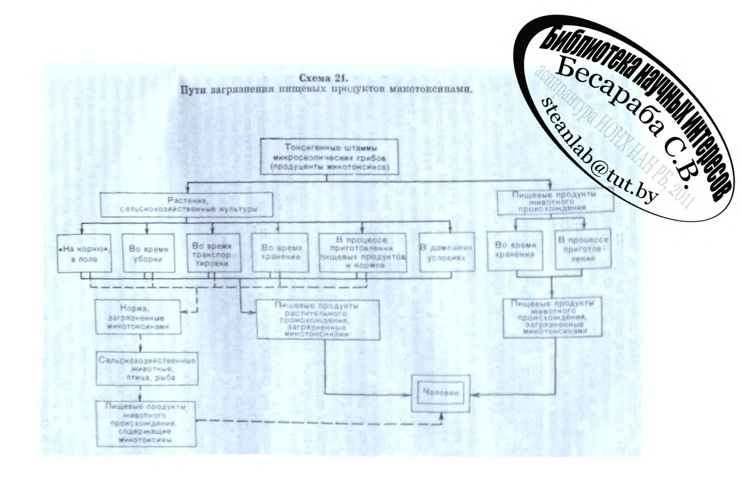
Организация контроля и методы определения микотоксинов

В системе мероприятий, направленных на профилактику заболеваний и укрепление здоровья населения, одно из ведущих мест по праву занимают меры, обеспечивающие безопасность пищевых продуктов. Центральным звеном этой системы является контроль за загрязнением пищевых продуктов чужеродными веществами химического и биологического происхождения, в частности микотоксинами. Особое внимание к проблеме микотоксинов в этом плане, как уже отмечалось, обусловлено исключительно широкой распространенностью их продуцентов в природе и способностью поражать пищевые продукты на любом этапе их производства: в поле («на корню»), во время уборки урожая, его транспортировки или хранения, в процессе приготовления пищи в домашних условиях. Они могут поражать продукты не только растительного, но и животного происхождения (при хранении или в процессе приготовления). Микотоксины могут попадать в организм человека и через систему пищевых цепей: с молоком и тканями животных, потреблявших корм, который был загрязнен микотоксинами (схема 21).

Следует подчеркнуть, что в настоящее время вопросы контроля за загрязнением пищевых продуктов и кормов микотоксинами решаются не только в рамках отдельных государств, но и на международном уровне. В частности, ряд крупномасштабных программ реализуется под эгидой ВОЗ, ФАО и ЮНЕП.

Организация системы контроля за загрязнением пищевых продуктов микотоксинами. С определенной степенью условности можно выделить два уровня организации контроля за загрязнением продовольственного сырья и пищевых продуктов чужеродными веществами, в частности, микотоксинами: инспектирование и мониторинг — система регулярных повторных количественных анализов степени загрязнения как отдельных пищевых продуктов, так и рациона питания в целом по стране или в определенном регионе страны. Организация мониторинга позволяет: установить уровень загрязнения и определить его вариабельность во времени, поскольку только на основании длительных регулярных наблюдений можно оценить степень опасности загрязнения микотоксинами пищевых продуктов для населения данного региона; установить причины и характер изменения уровня загрязнения; выявить пищевые продукты, являющиеся наиболее благоприятным субстратом для продуцентов микотоксинов; подтвердить эффективность мероприятий по снижению загрязнения; предотвратить поступление в пищу для населения продуктов с высоким уровнем загрязнения. Особое значение контроль приобретает при

Схема 21.
Пути загрязнения пищевых продуктов микотоксинами.



характеристике качества продуктов, импортируемых из других стран.

В настоящее время контроль за загрязнением пищевых продуктов микотоксинами введен во многих странах мира. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, ФАО и ЮНЕП, накопленным отечественным и международным опытом, целесообразным является создание многоступенчатой системы контроля с возрастающими аналитическими возможностями соответствующих лабораторий с выделением головной лаборатории, ответственной за сбор и анализ информации, поступающей из региональных лабораторий. Такая лаборатория должна быть подчинена государственному органу, ответственному за контроль безопасности пищевых продуктов [FAO/WHO 1979; Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1982].

Исключительно важным вопросом при организации мониторинга является организация аналитической службы, непосредственно анализирующей пробы на наличие в них микотоксинов. При этом следует иметь в виду, что наиболее важно выявить высокий уровень загрязнения в бо́льшем числе образцов, применяя простые методы, чем с помощью сложных методов анализировать меньшее количество образцов. В то же время необходимо и использование высоконадежных методов обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов, так как применение упрощенных методов обычно приводит к возрастанию числа ложноположительных и ложноотрицательных результатов, что крайне нежелательно с позиций как обеспечения безопасности пищевых продуктов, так и экономики сельскохозяйственного производства. Именно создание многоступенчатой системы контроля и позволяет решить эти альтернативные проблемы.

Какова же действующая у нас в стране система контроля? Министерство здравоохранения СССР⇄Главное санитарно-эпидемиологическое управление⇄головная лаборатория⇄министерства здравоохранения союзных республик⇄главные и санитарно-эпидемиологические управления⇄(республиканские головные лаборатории)⇄республиканские санитарно-эпидемиологические станции (СЭС)⇄областные, городские и бассейновые СЭС. Как видно, важное место в системе занимают головные лаборатории, организованные на базе Института питания АМН СССР и республиканских научно-исследовательских институтов гигиенического профиля. В их функции входят: внедрение в практику современных методов анализа, составление методических рекомендаций, обучение на рабочих местах персонала лабораторий более низкого уровня. Используя свои аналитические возможности, головные лаборатории контролируют результаты анализов лабораторий иного уровня, повышая тем самым достоверность данных, проводят в необходимых случаях арбитражные анализы, обобщают и систематизируют всю информацию об уровнях загрязнения пищевых продуктов микотоксинами, разрабатывают рекомендации по снижению загрязнения для отдельных регионов. На

основании данных головных лабораторий минздравы СССР и союзных республик разрабатывают необходимые профилактические мероприятия и внедряют их через соответствующие министерства и ведомства, ответственные за производство и импорт продовольственного сырья и пищевых продуктов. Необходимо подчеркнуть, что только наличие этой обратной связи делает систему мониторинга эффективной, поскольку сам по себе контроль ничего не дает для снижения уровня загрязнения пищевых продуктов микотоксинами [Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1982; Зайченко А. И., 1984].

Лабораторный контроль за загрязнением пищевых продуктов микотоксинами. Методы анализа. В системе контроля за загрязнением продовольственного сырья и пищевых продуктов микотоксинами можно выделить три основных этапа: отбор образцов для анализа, лабораторный анализ образцов и обобщение результатов анализа.

Отбор образцов для анализа. Отбор и подготовка проб для анализа их на содержание микотоксинов являются одним из наиболее важных этапов системы контроля, так как в значительной степени влияют на точность анализа. Необходимо отметить, что микотоксины обычно обнаруживают в высоких концентрациях только в местах, где пищевой продукт поражен токсигенными штаммами микроскопических грибов. Именно поэтому для правильной оценки степени загрязнения партии продовольственного сырья или пищевых продуктов микотоксинами необходим отбор так называемого репрезентативного образца, зависящий как от вида пищевого продукта, так и химической природы микотоксина. Учитывая, что продуценты микотоксинов могут поражать пищевые продукты на любом этапе их производства, отбор образцов для анализа следует производить на различных этапах: перед сбором урожая, в процессе хранения и перед реализацией для питания населения. Контроль за загрязнением импортируемой продукции целесообразно проводить на этапе ввоза в страну (бассейновые СЭС). Основными моментами, которые следует учитывать при отборе образцов из партии, являются их число, объем каждого образца, его гомогенность и соответствие качеству всей партии [IARC, 1982].

Необходимо подчеркнуть, что для жидких продуктов объем образца может быть меньше, чем для сыпучих, таких как зерно, мука и др. Наиболее трудоемким является отбор проб для определения содержания афлатоксинов. По стандартам некоторых стран, например США, из каждой партии продукта для анализа отбирают: арахиса — 48 образцов массой по 1 фунту; бразильского ореха — от 20 до 60 образцов по 1 фунту; зерна кукурузы — 10 образцов по 1 фунту; семян хлопчатника — 15 образцов по 4 фунта; сухофруктов — 50 образцов по 1 фунту; сухого молока — 10 образцов по 1 фунту [Campbell A., 1979; Whitaker T., Dickens J., 1979; IARC, 1982; Dickens J., Whitaker T., 1983]. Важнейшие моменты в подготовке образцов для анализа — предвари-

тельное измельчение и перемешивание отобранных проб. Пробы, отобранные из каждой партии объединяют, тщательно смешивают в механических смесителях большого объема, измельчают и уже усредненную таким способом пробу отбирают для анализа.

При оценке значения отдельных компонентов суммарной ошибки при определении, например, афлатоксинов показано, что при невысоком уровне загрязнения (до 50 мкг/кг) она связана главным образом с ошибкой отбора образцов: при концентрации афлатоксина B_1 в арахисе, равной 25 мкг/кг, коэффициент вариации аналитического метода составляет всего 23%, а этапа отбора образца — 110%. Столь высокий процент ошибки при отборе проб объясняется выраженной гетерогенностью загрязнения.

Методы определения микотоксинов. Современные методы обнаружения и определения содержания микотоксинов в пищевых продуктах и кормах включают скрининг-методы, количественные аналитические и биологические методы. Методология микотоксинов развивается очень быстро. Число разработанных методов и различных модификаций достигло уже нескольких сотен и продолжает нарастать. Вопросам методологии микотоксинов посвящено ряд работ обзорного характера [Тутельян В. А. и др., 1982; Nesheim S., 1978; Pohland A. et al., 1979; Scott P., 1982; Van Egmond H., 1983, 1984; Ueno Y., 1983; Schotwell O., 1983, и др.]. К значительным достижениям следует отнести выход в свет руководства IARC (1982) по методам анализа микотоксинов. В нем детально описаны наиболее надежные и апробированные методы обнаружения, идентификации и количественного определения важнейших микотоксинов в пищевых продуктах, биологических жидкостях и тканях животных.

Скрининг-методы, отличающиеся простотой и быстротой проведения анализов, позволяют быстро и надежно «отсеивать» незагрязненные образцы. К ним относятся такие широко распространенные методы, как миниколоночный способ выявления афлатоксинов, охратоксина А и зеараленона; ТСХ-методы для одновременного определения до 30 различных микотоксинов; флюоресцентный метод обнаружения зерна кукурузы, загрязненного афлатоксинами, и др.

Количественные аналитические методы определения микотоксинов могут быть подразделены на химические, радиоиммунохимические и иммуноферментные. Химические методы в настоящее время являются наиболее распространенными и включают последовательные стадии выделения и собственно количественного определения микотоксинов. Стадия выделения состоит из двух этапов: экстракции — отделение микотоксина от субстрата, и очистка — отделение микотоксина от соединений с близкими физико-химическими характеристиками. Окончательное разделение микотоксинов осуществляют с помощью одно- или двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах с силикагелем в различных системах растворителей, газовой и газо-жидкостной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и

масс-спектрометрии. Количественное определение микотоксинов проводят обычно путем прямого сравнения интенсивности флюоресценции при ТСХ в ультрафиолете со стандартами известной концентрации как визуально, так и денситометрически. Для повышения надежности методов применяют различные подтверждающие тесты, основанные на получении производных микотоксинов с иными хроматографическими, колориметрическими или флюориметрическими характеристиками.

Последние годы характеризуются усилением внимания к разработке высокочувствительных и высокоспецифических радиоиммунохимических и иммуноферментных методов обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов. Эти методы основаны на получении антисывороток к конъюгатам микотоксинов с бычьим сывороточным альбумином. Преимуществом их является исключительная чувствительность, позволяющая выявлять пикограммы микотоксинов, и вести разработки в направлении автоматизации процесса определения. Биологические методы, обычно не отличающиеся высокой специфичностью и чувствительностью, применяются главным образом для выявления микотоксинов, для которых отсутствуют химические методы анализа, или в качестве подтверждающих тестов. Тест-объектами служат различные микроорганизмы, куриные эмбрионы, многие лабораторные животные, культуры клеток и тканей.

В табл. 30 мы попытались суммировать сведения об основных методах обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов в пищевых продуктах и кормах.

Обработка результатов анализа и их обобщение. Результаты определения содержания отдельных микотоксинов в пищевых продуктах поступают в вышестоящие по уровню лаборатории, в которых по необходимости проводят арбитражный анализ. Обобщение результатов и их изучение осуществляются в научно-практических центрах (головных лабораториях). При статистической обработке целесообразно определить медиану и 90% уровень загрязнения — показатели, характеризующие реальный уровень загрязнения пищевых продуктов микотоксинами в данном регионе.

Данные контроля могут быть двух типов: требующие срочных мер профилактики микотоксикозов среди населения региона и позволяющие продолжить наблюдения без риска для здоровья людей. К срочным мерам по охране здоровья населения при определении высоких уровней загрязнения пищевых продуктов микотоксинами относятся: изъятие пищевого продукта из питания людей (использование его в качестве корма для сельскохозяйственных животных, для технических целей или уничтожение); «разбавление» доброкачественным продуктом; технологическая обработка, снижающая уровень загрязнения. В остальных случаях, когда не требуется применения срочных мер, контроль за загрязнением продовольственного сырья и пищевых продуктов дает полезную информацию о самом факте загрязнения, его уров-

Таблица 30. **Методы определения микотоксинов в пищевых продуктах и кормах**

Микотоксины	Продукт	Принцип метода	Предел обнаружения	Авторы, год
Афлатоксины $B_1+B_2+G_1+G_2$	Кукуруза, арахис и продукты его переработки, орехи	Миниколоночные скрининг-методы *	5—10 мкг/кг	J. Velasco, 1972; Romer T., 1975; IARC, 1982; G. Eguiazu, H. Frank, 1983
	Комбикорма		15 мкг/кг	
	Кукуруза, семена хлопчатника	BGYF-скрининг-метод (яркая зелено-желтая флюоресценция пораженных зерен и семян)	+ или —	O. Shotwell, C. Hesseltine, 1981; P. Marsh, M. Simpson, 1984
B_1, B_2, G_1 и G_2	Арахис и продукты его переработки	BF-метод — ТСХ-метод *	5 мкг/кг	IARC, 1982
		CB-метод — ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой *	2 мкг/кг	То же
		ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором	0,25 мкг/кг	O. Francis и соавт., 1982
	Зерновые, масличные и др. растительные продукты	Двухмерная ТСХ с предварительной КХ-очисткой **	1—2 мкг/кг	В. А. Тутельян и соавт., 1981
	Кукуруза, семена хлопчатника и продукты их переработки, комбикорма	ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой *	10 мкг/кг	IARC, 1982
		ВЭЖХ-метод с УФ-детектором *	5 мкг/кг	То же
		ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором и предварительной очисткой на патроне Sep-Pak	2,5 мкг/кг	H. Cohen, M. Lapointe, 1981
M_1	Молоко и молочные продукты	Двухмерная ТСХ с предварительной КХ-очисткой * и **	0,05—0,5 мкг/кг	IARC, 1982
			0,5 мкг/кг	В. А. Тутельян и соавт., 1981
		ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором	0,015 мкг/кг	H. Chang, J. De Vries, 1983
B_1 и M_1	Мясо и другие продукты животного происхождения	Двухмерная с предварительной КХ-очисткой *	0,1 мкг/кг	IARC, 1982

B_1, B_2, G_1, G_2 и M_1	То же	ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором	0,05—0,1 мкг/кг	J. Gregory, D. Manley, 1981
B_1	Пищевые продукты растительного и животного происхождения	Радиоиммунохимический метод	0,0001 мкг	P. Gaur и соавт., 1981
		Иммуноферментный метод	0,00001 мкг	То же
		Биологические методы с тест-объектами:		
		B. megaterium	2 мкг/мл	S. Nesheim, W. Brumley, 1981
		личинки Artemia salina	1 мкг/мл	D. Watson, D. Lindsay, 1982
		куриные эмбрионы	0,025 мкг на яйцо	То же
		однодневные утята	2 мкг на птицу	То же
Стеригматоцистин	Зерновые продукты	Одномерная ТСХ *	50 мкг/кг	IARC, 1982
		Двухмерная ТСХ *	20 мкг/кг	
	Сыр	ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой	5 мкг/кг	IARC, 1982
Охратоксин A	Различные пищевые продукты	Миниколоночный скрининг-метод	8 мкг/кг	C. Holaday, 1976
		Спектрофотометрический с использованием карбоксипептидазы A	4 мкг/кг	K. Hult, S. Gatenbeck, 1976
	Ячмень, кофе-бобы	ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой *	10 мкг/кг	IARC, 1982
	Зерновые продукты, кофе-бобы, корма	ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором	5 мкг/кг	То же
	Зерновые продукты	Иммуноферментный метод	0,06 мкг/кг	M. Morgan и соавт., 1983
			1—2 мкг/кг	S. Lee, F. Chu, 1984
	Различные пищевые продукты	Биологические методы с тест-объектами:		
		личинки Artemia salina	10 мкг/мл	D. Watson, D. Lindsay, 1982
		куриные эмбрионы	0,01—17 мкг на яйцо	

Продолжение

Микотоксины	Продукт	Принцип метода	Предел обнаружения	Авторы, год
Трихотеценовые микотоксины:				
Т-2 и НТ-2-токсины	Зерновые продукты	ТСХ-метод	300 мкг/кг	IARC, 1982
		ГЖХ–метод для ТМС-производных	100 мкг/кг	То же
		ГХ-масс-спектрометрический метод для ТМС-производных	1—5 мкг/кг	То же
Т-2 и НТ-2-Токсины, диацетоксискрпенол, дезоксиниваленол, ниваленол	Зерновые продукты, корма	ГЖХ-метод для ТМС-производных с пламенно-ионизационным детектором	100—200 мкг/кг	H. Kamimura и соавт., 1981
		с детектором электронного захвата	2—80 мкг/кг	То же
		Капиллярная ГЖХ ТФА-производных	100 мкг/кг	К. И. Эллер, В. С. Соболев, 1983
		ГЖХ-метод ПФБ-производных с детектором электронного захвата	10 мкг/кг	P. Scott и соавт., 1981
Дезоксиниваленол	Зерновые продукты	ВЭЖХ-метод с УФ-детектором	5—10 мкг/кг	K. Ehrlich и соавт., 1983
		Масс-спектрометрический метод без предварительной очистки экстрактов	100 мкг/кг	R. Plattner, G. Bennett, 1983
Т-2-Токсин	Молоко и молочные продукты	ГХ-масс-спектрометрический метод	3 мкг/кг	G. Collins, J. Rosen, 1979
	Зерновые продукты, молоко	Радиоиммунохимический метод	1—2,5 мкг/кг	S. Lee, F. Chu, 1981a, b
		Иммуноферментный метод	0,002 нг	H. Peters и соавт., 1982
Т-2-Токсин, диацетоксискирпенол и другие ТТМТ	Различные пищевые продукты	Биологические методы с тест-объектами:		
		личинки Artemia salina	0,25 мкг/мл	D. Watson, D. Lindsay, 1982

		кролики, морские свинки и др. (кожна проба)	0,01 мкг	То же
		пыльца табака (Nicotina sylvestris)	0,2 мкг/мл	J. Bul и соавт., 1981
		культуры эпителиальных клеток человека HEp-2 и Chang	0,01—10 нг	J. Robb, M. Norval, 1983
Веараленон	Кукуруза	ТСХ-скрининг-метод	100 мкг/кг	F. Thomas и соавт., 1975
	Зерновые продукты, корма	ТСХ-метод	85 мкг/кг	A. Gimeno, 1983
		Двумерная ТСХ**	40 мкг/кг	В. А. Тутельян и соавт., 1984
		ГЖХ-метод для ТМС-производных	100 мкг/кг	H. Kamimura и соавт., 1981
		ГХ-масс-спектрометрический	10 мкг/кг	M. Thaler, 1981
		ВЭЖХ-метод с флюоресцентным детектором	5 мкг/кг	P. Scott и соавт., 1978
		Масс-спектрометрический метод без предварительной очистки экстрактов	100 мкг/кг	R. Plattner, G. Bennett, 1983
Монилиформин	Зерновые продукты	ТСХ-метод	50 мкг/кг	H. Kamimura и соавт., 1981
Лютеоскирин	Рис	ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой	20 мкг/кг	IARC, 1982
Цитринин	Кукуруза и другие зерновые продукты	ТСХ-метод	50 мкг/кг	То же
		ВЭЖХ-метод	10—50 мкг/кг	R. Phillips и соавт., 1980
Патулин	Яблочный сок	ТСХ-метод	20 мкг/кг	IARC, 1982
	Фруктовые и овощные соки и пюре	Двухмерная ТСХ **	20 мкг/кг	В. А. Тутельян и соавт., 1982
	Яблоки и яблочный сок	ВЭЖХ-метод с УФ-детектором	5 мкг/кг	U. Leuenberger и соавт., 1978
		Масс-спектрометрический метод	5 мкг/кг	K. Price, 1979
Пенициллова кислота	Различные пищевые продукты	Хроматографические методы с предварительной КХ-очисткой:		IARC, 1982
		ТСХ-метод	50 мкг/кг	
		ГЖХ-метод для ТФА-производного	4 мкг/кг	
		ВЭЖХ-метод с УФ-детектором	25 мкг/кг	

Продолжение

Микотоксины	Продукт	Принцип метода	Предел обнаружения	Авторы, год
Рубратоксин В	Кукуруза и другие зерновые продукты	ТСХ-метод	4000 мкг/кг	IARC, 1982
Рокфортин	Различные пищевые продукты	ТСХ-метод	0,02 мкг	G. Eugel, 1979
PR-токсин	То же	ТСХ-метод	0,1 мкг	То же
Микофеноловая кислота	Сыр	ТСХ-метод с предварительной КХ-очисткой	2,5 мкг/кг	IARC, 1982
Одновременное выявление или количественное определение нескольких микотоксинов	Различные пищевые продукты и корма	ТСХ-скрининг-методы	Афлатоксин B_1 —0,1—5, Охратоксин А 5—20, Зеараленон — 20—100, Т-2-токсин — 200 мкг/кг и др.	Л. С. Львова и соавт., 1979; P. Steyn, 1981

* Метод прошел межлабораторную проверку и рекомендован АОАС в качестве официального (включен в документ FDA—Ch. 26 "Natural poisons").

** Метод прошел межлабораторную проверку и утвержден Министерством здравоохранения СССР в качестве официального.

ТСХ — тонкослойная хроматография, КХ — колоночная хроматография, ГХ —газовая хроматография, ГЖХ — газо-жидкостная хроматография, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография, УФ — ультрафиолетовый; ТМС — триметилсилиловый, ТФА — трифторацетильный, ГФБ — гептафторбутиральный; + или — — положительный или отрицательный результат.

не, масштабных и временных особенностях. Мониторинг позволяет оценить и эффективность профилактических мероприятий, направленных на снижение загрязнения.

Регламентация содержания микотоксинов в пищевых продуктах. Практически невозможно полностью предотвратить заражение сельскохозяйственной продукции микроскопическими грибами и загрязнение их микотоксинами, поэтому очень важно изыскивать пути утилизации загрязненных пищевых продуктов с целью снижения экономических потерь при одновременном обеспечении полной безопасности пищевых продуктов растительного и животного происхождения для здоровья человека. Одной из эффективных мер защиты организма от попадания чужеродных веществ, в том числе и микотоксинов, является гигиеническое регламентирование их содержания в продовольственном сырье, пищевых продуктах и в кормах. В настоящее время законодательным путем установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) для афлатоксинов и некоторых других микотоксинов во многих странах мира—более 50 [Кравченко Л. В., Тутельян В. А., 1978, 1982; IARC, 1982; Schuller P. et al., 1983]. При этом наблюдается тенденция как к увеличению числа регламентируемых микотоксинов, так и к большей дифференциации регламентов в зависимости от вида пищевого продукта (табл. 31). Эти тенденции обусловлены, с одной стороны, получением дополнительной научной информации и расширением наших знаний о неблагоприятном действии микотоксинов на организм человека, с другой — дальнейшим развитием аналитических методов определения этих токсинов в пищевых продуктах. Следует подчеркнуть, что использование загрязненных пищевых продуктов в качестве корма также регламентируется, причем исходный уровень загрязнения определяет возможности применения в зависимости от вида животных, их пола, возраста и дальнейшего назначения как пищевого продукта [FAO/UNEP, 1977]. Особое внимание уделяется регламентированию содержания микотоксинов в пищевых продуктах (в том числе животного происхождения), предназначенных для детского питания.

Весьма важным представляется вопрос об эффективности контроля, так как само по себе введение контроля за загрязнением пищевых продуктов микотоксинами не должно рассматриваться в качестве конечной цели. Анализ результатов систематического контроля (мониторинга) позволяет: во-первых, предотвратить поступление для питания населения продуктов с превышением ПДК микотоксинов; во-вторых, оценить отдаленные последствия употребления в пищу продуктов с низким уровнем загрязнения путем учета суммарного количества микотоксинов, поступивших с пищей в течение определенного промежутка времени (учет реальной нагрузки на основе данных о состоянии фактического питания и среднем уровне загрязнения отдельных пищевых продуктов); в-третьих, обосновать необходимость проведения мер, направленных на снижение уровня загрязнения, и оценить эф-

Таблица 31. Предельно допустимые концентрации микотоксинов в пищевых продуктах и кормах, официально установленные в некоторых странах

Страна	Микотоксин	Вид продукта	ПДК, мкг/кг
Австралия	Афлатоксины	Все пищевые продукты	5
Бельгия	Афлатоксины	Все пищевые продукты	5(B_1)
		Молоко и молочные продукты	1(M_1)
	Патулин	Все пищевые продукты	0*
	Охратоксин А	То же	0*
	Стеригматоцистин	» »	0*
	Зеараленон	» »	0*
Великобритания	Афлатоксины	Орехи и продукты из них	5(B_1)
		Различные корма	10—50(B_1)
Дания	Афлатоксины	Арахис и продукты из него	10
		Различные корма	10—50(B_1)
	Охратоксин А	Мясо свиное	25
		Печень и почки свиные	10
Индия	Афлатоксины	Мука арахисовая (пищевая)	30
		Мука арахисовая (кормовая)	1000
Канада	Афлатоксины	Орехи и продукты из них	15
	Дезоксиниваленол	Все зерновые продукты для детского питания	0*
Нидерланды	Афлатоксины	Арахис и продукты из него	5(B_1)
		Жидкое молоко	0,1(M_1)
		Различные корма	10—50(B_1)
Польша	Афлатоксины	Все пищевые продукты	5(B_1)
СССР	Афлатоксины	Все пищевые продукты	5(B_1)
		Молоко и молочные продукты	0,5(M_1)
	Патулин	Фруктовые и овощные соки и концентрированные пюре	50
		То же для детского питания	20
США	Афлатоксины	Все пищевые продукты и корма	20
		Жидкое молоко	0,5(M_1)
Финляндия	Афлатоксины	Орехи и продукты из них	5
ФРГ	Афлатоксины	Арахис и продукты из него	20 или 5(B_1)
		Различные корма	10—50(B_1)
Франция	Афлатоксины	Все пищевые продукты	10
		Пищевые продукты для детей	5
		Диетические молочные продукты	0,024 мкг/100 кДж
		Различные корма	10—50(B_1)

Продолжение

Страна	Микотоксин	Вид продукта	ПДК мкг/кг
Швеция	Афлатоксины	Все пищевые продукты	5
		Корма	600
	Патулин	Яблочный сок (концентрированный)	50
Япония	Афлатоксины	Все пищевые продукты	10(B_1)

* В пределах чувствительности метода.

фективность проведенных мероприятий. Данные контроля могут быть использованы также для оценки качества импортируемых и экспортируемых пищевых продуктов, совершенствования технологических приемов хранения и производства пищевых продуктов, для изучения возможных корреляций между уровнем загрязнения и характером заболеваемости населения отдельных регионов. Необходимо еще раз подчеркнуть, что проблема микотоксинов включает ряд аспектов, среди которых основными являются медицинский и экономический. Как достаточно убедительно показывает отечественный и международный опыт, введение эффективного контроля за загрязнением пищевых продуктов и кормов микотоксинами лежит в основе решения обеих задач этой важной народно-хозяйственной и гигиенической проблемы.

Заключение

В настоящей работе рассмотрены медицинские и биологические аспекты проблемы микотоксинов, сделана попытка обобщить и проанализировать многочисленные сведения об их структуре и физико-химических свойствах, распространенности и методах определения, особенностях метаболизма и механизма действия, роли в патологии человека и сельскохозяйственных животных. Нет необходимости вновь подчеркивать актуальность, народнохозяйственное и медицинское значение этой проблемы. Микроскопические (плесневые) грибы и продуцируемые ими микотоксины распространены повсеместно и могут поражать пищевые продукты и корма па любом этапе их производства. Многие микотоксины являются высоко токсичными соединениями, а некоторые из них обладают выраженными эмбриотоксическими, тератогенными, мутагенными и канцерогенными свойствами. Иными словами, они представляют потенциальную опасность для здоровья человека. Но какова степень этой опасности для отдельных микотоксинов? Какова степень реальности неблагоприятных последствий воздействия на организм человека микотоксинов? Ответ на эти вопросы имеет исключительно важное практическое значение, ибо позволит сконцентрировать внимание и усилия лишь на определенном (достаточно ограниченном) числе микотоксинов. Какие же факторы влияют на степень опасности загрязнителей пищевых продуктов, в частности, микотоксинов, для здоровья человека? Это, во-первых, характеристики самого микотоксина — степень острой токсичности; выраженность и частота отдаленных эффектов (в первую очередь канцерогенного); возможность аккумуляции в пищевых цепях и организме человека; во-вторых, это характеристики его распространенности в пищевых продуктах — частота и уровень загрязнения, особенно продуктов массового потребления; стабильность, особенности трансформации и деградации в пищевых продуктах; в-третьих, это характеристики объекта воздействия, т. е. человека — особенности метаболизма; наличие особо чувствительных групп населения (дети, беременные женщины, лица пожилого возраста и т. п.); в-четвертых, возможность комбинированного действия различных микотоксинов и других загрязнителей окружающей среды, имея в виду при этом реальность суммации их неблагоприятных эффектов на организм человека. Наконец, весьма важным фактором является так называемый уровень реальной нагрузки на человека с учетом времени воздействия (месяц, год, весь период жизни).

Достаточно одного лишь перечисления этих факторов, чтобы оценить сложность проблемы. Несомненно, что правильная оценка

степени опасности отдельных микотоксинов, загрязняющих пищевые продукты, для здоровья человека является первостепенной гигиенической и экономической задачей.

Микотоксикология, как было уже отмечено, наука многопрофильная и решение стоящих перед ней задач возможно лишь при комплексной работе специалистов в области самых различных областей знаний — химии и физики, биохимии и молекулярной биологии. Анализ накопленного фактического материала позволяет выделить следующие перспективные направления в изучении проблемы микотоксинов.

— Изучение так называемого вторичного метаболизма у различных видов микроскопических грибов в обычных и экстремальных условиях их роста; выделение вторичных метаболитов, изучение их структуры, физико-химических свойств, токсичности, направленное на выявление новых микотоксинов.

— Разработка надежных инструментальных химических методов обнаружения, идентификации и количественного определения микотоксинов в пищевых продуктах и кормах, а также высокочувствительных и высокоспецифических радиоиммунохимических и иммуноферментных методов их определения в биологических жидкостях и тканях человека и животных, что позволит получить прямые доказательства роли микотоксинов в развитии соответствующей патологии.

— Изучение частоты и уровня загрязнения пищевых продуктов микотоксинами; оценка реальной нагрузки отдельными микотоксинами на население различных регионов с учетом состояния фактического питания; изучение возможной коррелятивной зависимости между уровнем загрязнения пищи микотоксинами в данном регионе и характером заболеваемости населения.

— Изучение метаболизма микотоксинов в организме человека и животных и поиск возможных их активных метаболитов; расшифровка путей детоксикации микотоксинов в организме; оценка влияния различных алиментарных факторов на скорость метаболизма и детоксикации микотоксинов в организме.

— Изучение молекулярных и клеточных механизмов действия микотоксинов, обращая внимание на особенности нарушения функционирования ферментных систем и клеточных мембран при интоксикациях.

— Изучение отдаленных эффектов и прежде всего канцерогенного действия микотоксинов, особенно при их поступлении в низких дозах в течение длительного периода времени.

— Разработка новых технологических приемов хранения и приготовления пищевых продуктов, направленных на предупреждение загрязнения или удаление микотоксинов.

Здесь перечислены лишь некоторые основные направления в изучении медицинских и биологических аспектов проблемы микотоксинов.

* *
*

Интенсивные темпы развития микотоксикологии, ее успехи и практические достижения делают необходимым хотя бы в самой сжатой форме осветить те работы, которые вышли в свет в период подготовки рукописи к изданию.

Большое практическое значение имеют работы, посвященные изучению частоты и уровня загрязнения продовольственного сырья и пищевых продуктов микотоксинами. Засушливое лето 1983 г. на большей части территории США способствовало поражению кукурузы A. flavus и загрязнению зерна афлатоксинами в процессе его созревания [Romer T., 1984; Tuite J. et al., 1984]. Высокая частота (до 56% образцов) загрязнения афлатоксинами установлена для сорго урожая 1980 и 1981 гг. в некоторых районах США [McMillan W. et al., 1983]. Заслуживают внимания сообщения о случаях микотоксикозов у сельскохозяйственных животных в странах Северной Европы (Финляндия, Швеция), вызванных загрязнением кормового зерна афлатоксинами (до 8,2 мг/кг) и стеригматоцистином (4 мг/кг) [Holmberg T. et al., 1983; Pohjanvirta R. et al., 1984]. Проведенные в Индии исследования подтверждают, что кокосовые орехи и продукты их переработки являются благоприятным субстратом для образования афлатоксинов: 67,7% изученных образцов сухой копры содержали афлатоксины в концентрации от 10 до 4000 мкг/кг, а частота их обнаружения в сладостях и масле составляла соответственно 67% и 100% [Kumari C. et al., 1984]. В Нигерии большинство образцов пива из 20 пивоварен содержало афлатоксины в количестве от 1,7 до 137,7 мкг/л [Okoye Z., Ekpenyong K., 1984]. D. Watson (1984), суммируя результаты изучения микотоксинов в Великобритании, отмечает, что запрещение с 1982 г. использования для кормовых целей арахиса и семян хлопчатника, загрязненных афлатоксинами, привело к резкому снижению частоты обнаружения афлатоксина M_1 в молоке. Для гигиенистов представляют интерес данные об обнаружении афлатоксинов в воздушной пыли на предприятиях хранения и переработки зерна [Zennie T., 1984].

Дальнейшее совершенствование методов определения ТТМТ [Тутельян В. А. и др., 1985; Bata A. et al., 1984; Dohi Y. et al., 1984; King R. et al., 1984] способствовало получению новых сведений о распространенности этой группы микотоксинов. По мнению T. Romer (1984), холодное влажное лето 1981 и 1982 гг. явилось одной из основных причин относительно высокого уровня загрязнения кукурузы дезоксиниваленолом (вомитоксином) на среднем западе и востоке США. В Канаде в пшенице урожая 1982 и 1983 гг. среднее содержание дезоксиниваленола составляло 0,086 мг/кг [Scott P., 1984]. В этот же период в пшеничной муке этот показатель был на уровне 0,4 мг/кг, а в хлебобулочных изделиях — 0,08—0,27 мг/кг. В Великобритании дезоксиниваленол

был обнаружен в 16% образцов пшеницы урожая 1980—1982 гг. (0,02—0,4 мг/кг) и в 70% импортируемой пшеницы (в концентрации до 1,32 мг/кг) [Osborne G., Willis K., 1984, Watson D., 1984]. В связи с этими данными представляют интерес исследования P. Scott (1984), продемонстрировавшие чрезвычайную стабильность дезоксиниваленола в пшенице твердых сортов. Концентрация токсина не снижалась ни в продуктах переработки пшеницы (мука), ни в готовых изделиях (хлеб).

В исследованиях, проведенных в Польше, ФРГ и Великобритании, выявлена довольно высокая (16—21%) частота обнаружения охратоксина А в почках свиней, отобранных на бойнях [Golinski P. et al., 1984; Bauer J. et al., 1984; Watson D., 1984]. М. Е. Иваницкий и А. Ф. Ображей (1984) при остром токсикозе у свиней выявили высокий уровень загрязнения кормов патулином (до 24 мг/кг).

Таким образом, полученные в последнее время данные вновь подчеркивают актуальность проблемы микотоксинов для всех стран и необходимость организации постоянной системы контроля за частотой и уровнем загрязнения микотоксинами пищевых продуктов и кормов.

Продолжают интенсивно развиваться исследования процессов регуляции биосинтеза микотоксинов грибами-продуцентами. Работами R. Buchanan и D. Lewis (1984a, b) доказана важная роль глюкозы в регуляции синтеза афлатоксинов. Интересно, что некоторые природные компоненты перца, как, например, пиперин, в значительной степени подавляют образование афлатоксинов, а пиридазиноновые гербициды, наоборот, могут стимулировать их синтез [Bean G., Southall A., 1983; Madhyastha M., Bhat R., 1984].

Из большого числа работ, посвященных изучению токсических свойств и биохимических эффектов микотоксинов, остановимся только на тех, которые имеют принципиальное значение для оценки опасности отдельных микотоксинов и расшифровки механизма их действия. Заслуживает внимания сообщение об усилении канцерогенного действия афлатоксина B_1 на фоне регенеративной гиперплазии после частичной гепатэктомии [Dix K., 1984]. Приоритетное значение имеет работа P. Curry и соавт. (1984), в которой показано, что стеригматоцистин в дозе всего 0,06 мг/кг вызывает значительное увеличение частоты сестринских хроматидных обменов в костном мозге мышей. C. Brookes и соавт. (1984) считают, что обнаруженное ими подавление синтеза митохондриальных белков афлатоксином B_1 (на 100% через 24 ч) может играть важную роль в механизме его токсического действия. Обращает на себя внимание факт резкого изменения соотношения биогенных аминов в головном мозге цыплят при однократном введении им афлатоксина B_1 [Ahmed N., Singh U., 1984]. Несомненный интерес представляют данные I. Irvin и G. Wogan (1984) по изучению молекулярных механизмов действия афлатоксина B_1. Если раньше лишь предполагали наличие в молекуле ДНК участков, избирательно подвергающихся атаке афлатоксином B_1

[Moesch K. et al., 1983], то эти авторы экспериментально доказали селективность действий афлатоксина B_1 на определенный участок ДНК (рДНК), кодирующий рРНК-предшественник — 45S РНК.

В опытах на культуре гепатоцитов получены новые подтверждения роли глутатионтрансферазы в детоксикации афлатоксина B_1 [Loury D. et al., 1984]. Примечательно, что длительное введение крысам афлатоксина приводит к активации глутатионтрансферазы, сопровождающейся подавлением процесса ковалентного связывания токсина с макромолекулами клетки [Loury D., Hsieh P., 1984]. Заслуживают внимания данные о стимулировании метаболизма афлатоксина и подавлении его канцерогенных свойств под действием полихлорированных или полибромированных дифенилов — широко распространенных загрязнителей окружающей среды, являющихся индукторами цитохром P-450-содержащей монооксигеназной системы [Shelton D. et al., 1984, Shepherd E. et al., 1984]. A. Rahimtula и M. Martin (1984) обнаружили усиление мутагенной активности афлатоксина и повышение его способности необратимо связываться с макромолекулами при воздействии некоторых антиоксидантов.

Как было отмечено в книге, охратоксин A и цитринин часто обнаруживаются вместе в качестве природных загрязнителей зерновых продуктов. В связи с этим представляют интерес данные K. Mayura и соавт. (1984) о значительном усилении эмбриотоксического и тератогенного эффекта этих токсинов при их сочетанном действии на крыс.

Получены новые данные, подтверждающие наличие мутагенных свойств у фузарина C — микотоксина F. moniliforme. Показано, что обезвреживание его мутагенных метаболитов осуществляется путем конъюгации их с SH-глутатионом [Gelderblom W. et al., 1984].

K. Terao и соавт. (1984) приводят ряд экспериментальных доказательств в пользу гипотезы о метаболической активации микросомными ферментами печени циклохлоротина — одного из основных микотоксинов P. islandicum. Предварительное введение животным фенобарбитала усиливало токсическое действие циклохлоротина, в то время как введение $CoCl_2$, приводящее к снижению уровня цитохрома P-450 в печени, подавляло его токсичность. Так же как и в отношении других микотоксинов, тиолсодержащие агенты оказывали защитный эффект при микотоксикозе, вызванном циклохлоротином.

Получены первые экспериментальные подтверждения выдвинутой ранее гипотезы о роли реакции конъюгации пенициллловой кислоты с SH-глутатионом как одного из путей ее обезвреживания в организме [Dierickx P., De Beer O., 1984].

Как было уже отмечено, среди микотоксинов грибов рода Penicillium особо выраженными токсическими свойствами отличается циклопиазоновая кислота, часто обнаруживаемая в зерновых продуктах вместе с афлатоксинами. W. Sorenson и соавт. (1984) впервые выявили у циклопиазоновой кислоты мутагенную

активность, равную по степени выраженности активности афлатоксина B_1. Важно, что при совместном действии этих микотоксинов наблюдалась суммация эффектов.

Получены новые данные о молекулярных механизмах действия PR-токсина — микотоксина P. roqueforti. Обнаружено, что он подавляет активность ДНК-полимераз α, β и γ [Lee Y. et al., 1984].

Публикация P. Bezille и соавт. (1984) является первым сообщением о случаях на европейском континенте фациальной экземы — микотоксикоза, вызванного грибами Pithomyces chartarum. Авторы описывают клинику отравления среди овец во Франции в период 1980—1982 гг. R. Munday (1984a, b) продолжил изучение механизма токсического действия микотоксина, продуцируемого P. chartarum, — споридесмина, и получил новые доказательства важной роли внутриклеточной генерации супероксидного радикала $O_2^{\cdot}$ в инициации патологических изменений при споридесминотоксикозах.

Все большее внимание привлекают к себе ТТМТ. Нами совместно с К. И. Эллером впервые был выделен из культуры F. sporotrichiella новый ТТМТ — 3'-гидрокси-Т-2-токсин, который до настоящего времени был известен только как продукт метаболизма Т-2-токсина у некоторых млекопитающих [Yoshizawa T. et al., 1982, 1984]. K. Khera и соавт. (1984) подчеркивают выраженность эмбриотоксического действия ТТМТ, обнаружив значительное повышение смертности, изменения массы и размеров плодов у грызунов при введении им дезоксиниваленола в дозах, соответствующих 1,5 мг на 1 кг массы тела. Однако имеются и противоречивые сведения. R. Morrissey (1984), в частности, не обнаружил какого-либо влияния этого микотоксина на беременных крыс и их потомство при включении в корм дезоксиниваленола в количествах от 0,5 до 5 мг/кг. Представляют интерес данные Y. Ueno (1984) о развитии острого токсикоза у мышей при кратковременной ингаляции Т-2-токсина в дозах всего 33 и 140 мкг/кг. Считают, что одной из возможных причин развития геморрагического синдрома при микотоксикозах, вызванных Т-2-токсином, НТ-2-токсином и диацетоксискирпенолом, являются нарушение проницаемости мембран тромбоцитов и подавление реакции их агрегации [Chan P., Gentry P., 1984; Yarom R., 1984].

Новые данные о механизмах токсического действия ТТМТ группы А получены и в нашей лаборатории. В первую очередь хотелось бы остановиться на результатах изучения механизмов развития Т-2-микотоксикоза с выраженным геморрагическим синдромом, впервые воспроизведенным нами совместно с В. Б. Спиричевым в опытах на крысах с недостаточностью витамина Е. В качестве биохимических критериев оценки токсического действия изучали активность 14 ферментов, характеризующих функциональное состояние различных клеточных органелл печени и уровень метаболизма ксенобиотиков, а также содержание белка и восстановленного глутатиона. Сам по себе гиповитаминоз Е не оказывал сколько-нибудь существенного влияния на эти показа-

тела. Несмотря на различия клинической картины Т-2-микотоксикоза у животных с нормальным и низким содержанием α-токоферола в рационе, характер и степень выраженности изменений общей ферментной активности были одинаковыми у крыс обеих групп: в равной степени были снижены в печени активность лизосомных гликозидаз (β-N-ацетилглюкозаминидазы, β-глюкуронидазы и α-маннозидазы), карбоксилэстеразы, содержание цитохрома Р-450 и белка; почти одинаково возрастала активность эпоксадгидролазы и UDP-глюкуронозилтрансферазы. В то же время уровень неседиментируемой активности кислых гидролаз печени, отражающей состояние лизосомных мембран гепатоцитов, резко отличался у животных, получавших Т-2-токсин на фоне различной обеспеченности витамином Е. Если в условиях полноценного питания неседиментируемая активность лизосомных гидролаз была сниженной (установленный нами характерный признак Т-2-микотоксикоза), то при гиповитаминозе Е Т-2-токсин приводил к резкому (в 2—5 раз) ее возрастанию. Существенные различия в изменении ферментной активности выявлены и в сыворотке крови. При введении Т-2-токсина на фоне полноценного рациона отмечалось резкое снижение активности щелочной фосфатазы и умеренное уменьшение содержания SH-глутатиона, а у животных с гиповитаминозом Е — возрастание в 2 раза активности щелочной фосфатазы и в $1^1/_2$ раза уровня SH-глутатиона. Полученные результаты позволяют предположить, что нарушение проницаемости цитомембран при Т-2-микотоксикозе на фоне гиповитаминоза Е является важным фактором, способствующим развитию геморрагического синдрома.

В наших предыдущих исследованиях [Кравченко Л. В. и др., 1983; Кравченко Л. В., Котик А. Н., 1983] было показано, что острый Т-2-токсикоз у крыс и индюшат характеризуется подавлением в печени и сыворотке крови активности ферментов лизосом. В дальнейшем при подостром Т-2-токсикозе у крыс мы также обнаружили снижение активности лизосомных гидролаз — α-маннозидазы и β-N-ацетилглюкозаминидазы в 2 раза; катепсинов А, В, С и D соответственно на 65, 69, 22 и 38%. Активность же маркерных ферментов митохондрий и микросом при этом не изменялась. Примечательно, что в сыворотке крови активность всех изученных лизосомных ферментов была снижена в 2—3 раза, а содержание белка — на 40%. Обнаруженное подавление активности лизосомных гидролаз при остром и подостром Т-2-микотоксикозе можно расценивать как следствие ингибирования Т-2-токсином синтеза белка. В то же время нельзя исключить и прямого действия токсина на ферменты. Предполагают, что в проявлении каталитической активности кислых гидролаз лизосом главная роль принадлежит карбоксильным группам [Barrett A., 1972]. Так как эпоксиды относятся к соединениям, активно взаимодействующим с карбоксильными группами, ТТМТ можно рассматривать в качестве неконкурентных ингибиторов лизосомных ферментов. Заслуживают внимания данные о влиянии Т-2-токсина на активность

ферментов, метаболизирующих ксенобиотики. При подостром Т-2-токсикозе мы совместно с А. Э. Кранаускасом обнаружили значительное снижение в печени уровня цитохрома Р-450 (на 60%), содержания микросомного белка и подавление активности анилингидроксилазы (на 28%) и карбоксилэстеразы (на 32%). Интересно, что при этом активность эпоксидгидролазы, UDP-глюкуронозилтрансферазы и глутатионтрансферазы возрастала соответственно до 140, 148 и 112% от контрольного уровня. Выявленная активация эпоксидгидролазы и ферментов конъюгации может быть расценена как доказательство роли этих ферментных систем в метаболизме Т-2-токсина.

В этом плане большой интерес представляют данные, полученные нами совместно с А. Б. Левицкой при изучении хронического Т-2-токсикоза у мышей [Кравченко Л. В. и др., 1985]. У животных, получавших в течение 6 мес Т-2-токсин в дозе $^1/_{20}$ или $^1/_{100}$ LD_{50} (соответствует концентрации токсина в корме 0,4 и 0,08 мг/кг), было обнаружено зависимое от дозы подавление в печени активности ферментов I фазы метаболизма ксенобиотиков и значительное возрастание активности глутатионтрансферазы. Через 3 мес после прекращения введения токсина у мышей, получавших Т-2-токсин в дозе $^1/_{20}$ LD_{50}, достоверно сниженными оставались уровень цитохрома Р-450 и активность карбоксилэстеразы, в то время как активность глутатионтрансферазы и UDP-глюкуронозилтрансферазы была выше контроля. У животных, получавших токсин в меньшей дозе, к концу восстановительного периода обнаружена значительно повышенная активность глутатионтрансферазы.

Многочисленными исследованиями было показано, что НТ-2-токсин является одним из основных метаболитов Т-2-токсина в образуется в результате деацетилирования Т-2-токсина при участии микросомной карбоксилэстеразы. Он обнаруживается также в значительных количествах наряду с Т-2-токсином в культурах грибов-продуцентов ТТМТ группы А. Однако сведения о токсических свойствах НТ-2-токсина практически отсутствуют. Проведенные в нашей лаборатории исследования показали, что LD_{50} Т-2- и НТ-2-токсина для крыс самок линии Вистар существенно не отличаются и составляют соответственно 4,33 и 6,5 мг на 1 кг массы тела, а для мышей CBA×C57BL/6—6,75 и 12,7 мг/кг [Левицкая А. Б. и др., 1985а, б; Тутельян В. А. и др., 1985]. Клинические симптомы токсикоза, вызванного у крыс и мышей НТ-2-токсином, не отличались от основных признаков Т-2-токсикоза, но развивались на более поздних сроках. Степень изменения гематологических показателей (уменьшение числа лейкоцитов) и ферментной активности сыворотки крови (снижение активности щелочной фосфатазы и лизоцима) была резко выраженной при остром НТ-2-токсикозе и умеренно — при остром НТ-2-токсикозе у мышей. Как Т-2-, так и НТ-2-токсин в дозе $^1/_{10}$ LD_{50} вызывали подавление клеточного и гуморального иммунитета у мышей, но действие НТ-2-токсина было значительно ме-

нее выраженным [Тутельян В. А. и др., 1985]. При подостром Т-2-токсикозе в печени мышей умеренно (на 28%) возрастала активность глутатионтрансферазы, а активность UDP-глюкуронозилтрансферазы была ниже контрольного уровня. При введении НТ-2-токсина в той же дозе ($^1/_5$ LD_{50}) активность глутатионтрансферазы возрастала почти в 2 раза, причем достоверно повышалась и активность UDP-глюкуронозилтрансферазы.

Сравнение эмбриотропного действия Т-2- и НТ-2-токсина на крыс линии Вистар [Левицкая А. Б. и др., 1985б] показало, что введение токсинов на протяжении всей беременности в количестве соответственно 0,62 и 0,93 мг на 1 кг массы тела (соответствует $^1/_7$ LD_{50} для крыс самок) приводит к полной внутриутробной гибели плодов у всех самок и значительному возрастанию количества резорбций. При этом у самок выявляли достоверное снижение активности щелочной фосфатазы и α-маннозидазы, а также уровня лизоцима и титра антител в сыворотке крови, более выраженное при введении Т-2-токсина. При введении Т-2-токсина только на 9—11-й день беременности полная внутриутробная гибель плодов наблюдалась у 15% самок, а число резорбций, общая эмбриональная и постимплантационная гибель существенно превышали показатели контрольной группы. При введении токсина значительно снижалось число живых плодов, их масса и размеры.

Таким образом, проведение широких комплексных биохимических, иммунологических и гематологических исследований трихотеценовых микотоксикозов позволили, с одной стороны, получить ряд принципиально новых данных о метаболизме и механизме токсического действия ТТМТ, а с другой — подойти к проблеме выбора специфических и чувствительных диагностических показателей.

В заключение следует упомянуть новые работы, касающиеся оценки опасности микотоксинов для здоровья человека. Продолжает привлекать к себе внимание как возможный вариант микотоксикоза человека квашиоркор. В отличие от ранее выдвинутых и в определенной степени подтвержденных гипотез о роли афлатоксинов в этиологии квашиоркора, G. Reid (1984) отмечает значительное сходство патогенеза этого заболевания и фациальной экземы, вызываемой споридесминами. Представляет значительный интерес работа японских ученых S. Tsuboi и соавт. (1984), в которой представлены предварительные результаты выборочного определения афлатоксинов в сыворотке крови людей. Эти авторы выявили зависимость частоты и уровня содержания афлатоксина B_1 от приема пищи: при обследовании натощак афлатоксин B_1 обнаружен у 25% людей в концентрации от 20 до 56 нг/л, а после завтрака — у 36,2% в количестве до 1169 нг/л.

Описаны два случая чешуйчатоклеточной карциномы наружного слухового прохода у лиц с хроническим отитомикозом [Gip L., 1984]. В связи с этим сообщением заслуживает внимания гипотеза о роли микотоксинов в развитии хронической иммунологической неотвечаемости при аспергиллезах и этиологии синдрома



приобретенной иммунологической недостаточности [Eichner R., Müllbacher A., 1984]. Получены дополнительные данные, свидетельствующие в пользу гипотезы о синергизме афлатоксинов и вирусного гепатита В в этиологии первичного рака печени у человека [Garner R., 1984].

Итак, мы могли убедиться в том, что современная микотоксикология располагает уже довольно значительным объемом информации и продолжает интенсивно накапливать новые данные. Однако в любом из ее разделов имеется еще очень много нерешенных проблем. Авторы надеются, что монография будет способствовать развитию исследований в области микотоксикологии.

СПИСОК ОСНОВНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аврекьева Л. И., Соболев В. С., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. — Гиг. и сан., 1983, № 12, с. 27—28.
Арчаков А. И. Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975. — 327 с.
Ахметели М. А. — Сов. мед., 1973, № 5, с. 123—128.
Билай В. И. Фузарии. — Киев: Наукова думка, 1977. — 442 с
Билай В. И., Пидопличко Н. М. Токсинообразующие микроскопические грибы. — Киев: Наукова думка, 1970. — 291 с.
Билай В. И., Тутельян В. А., Элланская И. А. и др. — Микробиол. журн., 1983, № 5, с. 45—49.
Блинов Н. И. — Сельск. хоз-во за рубежом, 1984, № 2, с. 43—47.
Богородицкая В. П. — Вопр. питания, 1975, № 6, с. 47—51.
Болтянская Э. В. — Биол. науки, 1977, № 11, с. 19—25.
Бондарчук А И., Каспрук И. М. — Ветеринария, 1984, № 2, с. 67—68.
Бухарбаева А. С., Ников П. С. — В кн.: Микотоксины (продуценты, химия, биосинтез, определение, действие на организм). — Оренбург: Оренбургский мед. ин-т, 1977, с. 29—31.
ВОЗ. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Т. 11. — Микотоксины. — ВОЗ, Женева, 1982. — 146 с.
Воронин М. С. — В кн.: Труды 8-го съезда русских естествоиспытателей и врачей. — СПб., 1890, с. 13—21.
Девли Г. Н. — Вопр. питания, 1983, № 6, с. 67—69.
Девли Г. Н., Максименко Л. В., Эллер К. И., Тутельян В. А. — Вопр. питания, 1985, № 1, с. 45—47.
Дончева И. — Хигиена и здравеопазване, 1976, № 4, с. 371—377.
Дончева И. — Хигиена и здравеопазване, 1978, № 3, с. 273—278.
Дроботько В. Г. — Врач. дело, 1946, № 3, с. 125—128.
Ефремов В. В. Алиментарно-токсическая алейкия. — М.: Медгиз, 1948, 120 с.
Котик А. Н., Труфанова В. И. — В кн.: Микотоксины (продуценты, химия, биосинтез, определение, действие на организм). — Оренбург: Оренбургский мед. ин-т, 1977, с. 89—90.
Котик А. Н., Труфанова В. И. — Ветеринария, 1980, № 4, с. 58—59.
Котик А. Н., Чернобай В. Т., Комиссаренко Н. Ф., Труфанова В. И. Микробиол. журн., 1979, № 6, с. 636—638.
Кравченко Л. В. — В кн.: Структура и функции лизосом. — М., 1976, с. 72—73.
Кравченко Л. В. — В кн.: Чужеродные вещества в пищевых продуктах. — Алма-Ата, 1979, с. 36—37.
Кравченко Л. В. — В кн.: Структура и функции лизосом. — Новосибирск, 1980, с. 94.
Кравченко Л. В, Авреньева Л. И. — Вопр. питания, 1984, № 1, с. 61—64.
Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., Тутельян В. А. — Вопр. мед. химии, 1983а, № 4, с. 113—117.
Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., Тутельян В. А. — Вопр. мед. химии, 1983б, № 5, с. 135—137.
Кравченко Л. В., Авреньева Л. И., Тутельян В. А. — Докл. АН СССР, 1984а, т. 276, № 5, с. 1270—1273.
Кравченко Л В, Конь И. Я., Авреньева Л. И., Тутельян В. А. — Вопр. мед. химии, 1984б, № 6, с. 88—91.
Кравченко Л. В., Котик А. Н. — Науч.-техн. бюл. УкрНИИ птицеводства ВАСХНИЛ, 1983, № 14, с. 44—46.
Кравченко Л. В., Тутельян В. А. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1978, № 4, с. 390—405.
Кравченко Л. В, Тутельян В. А. — Вопр. питания, 1982, № 5, с. 16—23.

Кравченко Л. В., Хованя С. И., Аверьянова Л. И. и др. — Цитология, 1983а, № 11, с. 1264—1269.
Кръстев Л. П., Василев Т., Боров Б. И., Каменова Б Б — Вопр. питания, 1984, № 1, с. 57—60.
Кулманов М Е — Вопр. питания, 1982, № 6. с 68—69.
Левицкая А. Б., Аверьянова Л. В., Тутельян В. А. — Вопр. питания, 1985, № 3, с 8.
Львова Л С., Быстрякова З. К., Кизленко О. И. — Труды ВНИИЗ, 1983, вып. 103, с. 84—89.
Львова Л. С., Быстрякова З. К., Меркулов Е. М. и др. — Вопр. питания, 1984, № 1, с. 64—68.
Львова Л. С., Кравченко Л. В., Шульгина А. П. — Приклад. биохим., 1979, № 1, с. 143—149
Львова Л. С., Соседов Н И., Гэрэл У. и др. — Приклад. биохим., 1976, № 5, с. 741—749.
Мишустин Е. Н., Кретович В. Л., Бундель А. А. — Гиг. и сан., 1946, № 11, с. 32—35.
Олифсон Л. Е. Химические и биологические свойства ядовитых веществ зерна, пораженного грибами Fusarium sporotrichiella. Автореф. дис. докт. — М., 1965. — 52 с.
Олифсон Л Е. — В кн.: Тезисы докладов симпозиума по микотоксинам. — Киев, 1972. с. 12—13.
Пановишвили К. П., Боровков А. В. — В кн.: Микотоксины (продуценты, химия, биосинтез, определение, действие на организм). — Оренбург, 1977, с. 14—16.
Перкель И. В. — В кн.: Микотоксикозы человека и сельскохозяйственных животных. — Киев. 1960, с. 95—103.
Покровский А А. Роль биохимии в развитии науки о питании. — М.: Наука, 1974. — 126 с.
Покровский А. А Метаболические аспекты фармакологии и токсикологии пищи. — М.: Медицина, 1979 — 181 с.
Покровский А. А., Безпрованный Б К — Сов. мед., 1972, № 2, с. 79—88.
Покровский А А., Вальдес-Мендоса В. С., Станеев М. П. и др. — Вопр питании, 1969, № 6, с. 3—7.
Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. — Биохимия, 1971, № 4, с. 690—696.
(*Покровский А. А., Кравченко Л В, Тутельян В А.*) *Pokrovsky A. A., Kravchenko L. V., Tutelyan V. A.* — Biochem. Pharmacol., 1972a, vol. 21, p 2489—2496.
(*Покровский А. А, Кравченко Л В, Тутельян В А.*) *Pokrovsky A. A., Kravchenko L. V, Tutelyan V. A.* — Toxicon, 1972b, vol. 10, p 25—30
Покровский А. А, Кравченко Л. В, Тутельян В. А. Афлатоксины. — М.: ВИНИТИ АН СССР, Токсикология, т. 8, 1977. — 107 с.
(*Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А.* и др.) *Pokrovsky A. A., Kravchenko L. V, Tutelyan V A* et al — Toxicology, 1975, vol 3, p. 69—78.
Покровский А. А., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. и др — Фармакол. и токсикол., 1976, № 1, с. 93—98
Покровский А. А., Мешков Н. В., Кравченко Л. В. — Арх. пат, 1973, № 8, с. 57—60.
Покровский А. А., Морозов Б. В, Кравченко Л. В., Тутельян В. А. — Бюлл. экспер. биол., 1975а, № 5, с. 49—53.
Покровский А. А, Николаева М. Я, Лашнева Н. В. и др. — Вопр онкол., 1974, № 9, с. 75—79.
Покровский А. А, Тутельян В. А Лизосомы. — М.: Наука, 1976. — 382 с
Покровский В. А., Тутельян В. А., Кравченко Л. В. — Вопр. мед. химии, 1976, № 5, с. 581—596.
(*Покровский А А., Тутельян В. А, Кравченко Л В*) *Pokrovsky A. A., Tutelyan V. A., Kravchenko L. V.* — In: Abstracts of 3-th Internat. IUPAC Symposium on mycotoxins in foodstaffs — Paris, 1976, p 37
Покровский А. А. Тутельян В А., Олифсон Л. Е., Кравченко Л. В. — Бюлл. экспер. биол., 1974, № 7, с. 38—41.

Покровский В. И., Тутельян В. А. — Тер. арх., 1982, № 9, с. 106—110.
Попов А. А., Кръстев Л. П., Каменова В. В. — Вопр. питания, 1982, № 3, с. 58—60.
Рубенчик Б. Л., Костюковский Я. Л., Меламед Д. В. Профилактика загрязнения пищевых продуктов канцерогенными веществами. — Киев: Здоров'я, 1983. — 160 с.
Рубинштейн Ю. И. — Вопр. питания, 1953, № 1, с. 73—81.
Рубинштейн Ю. И. — В кн : Микотоксикозы человека и сельскохозяйственных животных. — Киев: 1960, с. 71—89.
Рухляда В. В. — Кролиководство и звероводство, 1982, № 2, с. 32—34.
Рухляда В. В. — Ветеринария, 1983, № 5, с. 61—62.
Рухляда В. В., Шайда Д. А. — Ветеринарiя (Київ), 1983, № 58, с. 45—48.
Саркисов А. Х. Микотоксикозы. — М.: Сельхозгиз, 1954. — 216 с.
Саркисов А. Х., Квашнина Е. С. — Докл. АН СССР, 1948, т. 13, № 1, с. 77—79.
Сидоренко Г. И. (ред.). Гигиена окружающей среды. — М.: Медицина, 1985.— 304 с.
Соболев В. С., Эллер К. И., Болтянская Э. В. и др. — Изв. АН СССР, Сер. биол., 1984, № 1, с. 137—140.
Тутельян В. А. — В кн.: Микотоксины (продуценты, химия, биосинтез, определение, действие на организм). — Оренбург, 1977, с. 11—13.
Тутельян В. А. — В кн.: Чужеродные вещества в пищевых продуктах. — Алма-Ата, 1979, с. 34—35.
Тутельян В. А. — Вопр. питания, 1983, № 6, с. 10—17.
Тутельян В. А. — Вестн. АМН СССР, 1984, № 8, с. 84—89.
Тутельян В. А., Костюковский Я. Л., Эллер К. И. и др. Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в пищевых продуктах. — М.: Минздрав СССР, 1981.— 17 с.
Тутельян В. А., Кравченко Л. В. — Вестн. АМН СССР, 1981, № 1, с. 88—95.
(*Тутельян В. А., Кравченко Л. В., Николаева М. Я., Покровский А. А.*) *Tutelyan V. A., Kravchenko L. V., Nikolaeva M. Ja., Pokrovsky A. A.* — In: Abstracts of 4-th International Symposium on animal, plant and microbial toxins. — Tokyo, 1974, p. 109—110.
(*Тутельян В. А., Кравченко Л. В., Эллер К. И.*) *Tutelyan V. A., Kravchenko L. V., Eller K. I.* — In: Toxigenic Fungi — their Toxins and Health Hazard. — Tokyo, Kodansha—Elsevier, 1984a, p. 282—291.
Тутельян В. А., Эллер К. И., Кравченко Л. В. — Гиг. и сан., 1981, № 11, с. 49—53.
Тутельян В. А., Эллер К. И., Максименко Л. В., Соболев В. С. Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания патулина в фруктовых и овощных соках и пюре. — М.: Минздрав СССР, 1982. — 12 с.
Тутельян В. А., Эллер К. И., Соболев В. С., Аверьяева Л. И., Розынов Б. В., Богданова И. А. — Докл. АН СССР, 1984б, т. 274, № 3, с. 727—730.
Тутельян В. А., Эллер К. И., Соболев В. С., Деалц Г. Н. Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и определению содержания зеараленона в пищевых продуктах. — М.: Минздрав СССР, 1984. — 12 с.
Урумбаева Т. Н. — Вопр. питания, 1983, № 2, с. 67—68.
Фадеева Л. М. Микотоксикологическая характеристика зерна хлебных злаков позднего сбора в ряде областей Казахстана. Автореф. дис. канд. — Алма-Ата, 1969. — 21 с.
Шарманов Т. Ш., Ников П. С., Фадеева Л. М., Бухарбаева А. С. — Вопр. питания, 1984, № 1, с. 7—12.
Эллер К. И., Максименко Л. В., Тутельян В. А. — Вопр. питания, 1982, № 6, с. 62—66.
Эллер К. И., Соболев В. С. — Журн. анал химии, 1983, № 5, с. 903—907.

Abdollahi A., Buchanan R. L. — J. Food Sci., 1981, vol. 46, p. 633—635.
Abramson D., Mills J. T., Boycott B. R. — Can. J. Comp. Med., 1983, v. 47, p. 23—26.

Adekunle A. A., Hayes J. R., Campbell T. C. — Biochem. Exp. Biol., 1978, vol. 14, p. 45—53.
Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn. — Southern Cooperative Series Bulletin 279, Alabama, 1983 — 112 p.
Aflatoxin. Ed. L. A. Goldblatt — New York—London, Acad. Press, 1969. — 472 p.
Agrelo C. E., Schoentel R. — Toxicol. Lett., 1980, vol. 5, p. 155—160.
Akinrimisi E. O., Benecke B. J., Seifert K. H. — Eur. J. Biochem., 1974, vol. 42, p. 333—339.
Alozie T. C., Bassir O. — J. Pharmacol. Med. Sci., 1979, vol. 3, p. 71—73.
Alpert M. E., Hutt M. S. R., Wogan G. N., Davidson C. S. — Cancer, 1971, vol. 28, p. 253—260.
Anderson R. A. — In: Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn. — Alabama, 1983, p. 87—90.
Angsubhakorn S., Bhamarapravati N., Sahaphong S., Karanyavans S. — In: Control of the microbial contamination of foods and feeds in international trade: microbial standards and specifications. Tokyo, Saikon Publ. Co., 1982, p. 239—248.
Appelgren L.-E., Arora R. G. — Food Chem. Toxicol., 1983, vol. 21, p. 563—568.
Appelgren L.-E., Arora R. G., Larsson P. — Toxicology, 1982, vol. 25, p. 243—253.
Applebaum R. S., Marth E. H. — Z. Lebensm. Untersuch. — Forsch., 1982, Bd 174, S 303—305.
Applebaum R. S., Marth E. H. — Mycopatholcgia, 1981, vol 76, p. 103—114.
Appleton B. S., Campbell T. C. — Nutr. Cancer, 1982, vol. 3, p. 200—206.
Appleton B. S., Campbell T. C. — Cancer Res., 1983, vol. 43, p. 2150—2153.
Arafa A. S., Bloomer R. J., Wilson H. R. et al. — Brit. Poultry Sci., 1981, vol. 22, p. 431—436.
Arai M., Hibino T. — Cancer. Lett., 1983, vol. 17, p. 281—287.
Arora R. G., Frölen H., Nilsson A. — Arch. vet. scand., 1981, vol. 22, p. 524—534.
Arp L. H., Richard J. L. — J. Amer. Vet. Med. Assoc., 1979, vol. 175, p. 565—566.
Arp L. H., Richard J. L. — Mycopathologia, 1981, vol. 73, p. 109—113.
Ashoor S. H., Chu F. S. — Biochem. Pharmacol., 1975, vol 24, p. 1799—1805.
Atherton L. G., Brewer D., Taylor A. — In: Mycotoxins, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 29—68.
Aucock H. W., Marasas W. F. O., Meyer C. J., Chalmers P. — J. South Afr. Vet. Assoc., 1980, vol. 51, p. 163—166.
Autrup H., Essigmann J. M., Croy R. G. et al. — Cancer Res., 1979, vol. 39, p. 694—698.
Bababunmi E. A., Emerole G. O., Uwaifo A. O., Thabrew M. I. — In: IARC Sci. Publ. N 39, 1982, p. 393—403.
Baetz A. L., McLoughlin M. E. — Amer. J. Vet. Res., 1983, vol 44, p. 1971—1972.
Bai N. J., Pai M. R. R., Venkitasubramanian T. A. — Indian J. Biochem. Biophys., 1977, vol. 14, p. 86—88.
Bailey G., Taylor M., Selivonchick D. et al. — Basic Life Sci., 1982, vol 21, p. 149—165.
Baldwin R. S., Williams R. D., Terry M. K. — Regul. Toxicol. Pharmacol., 1983, vol. 3, p. 9—25.
Bamburg J. R. — In: Mycotoxins and other fungal related food problems. Washington, D. C., 1976, p. 144—162.
Bandre T. R., Raghukumar V., Powar C. B., Daginawala H. F. — Indian J. Microbiol., 1982, vol. 22, p. 68—71.
Barnikol H., Gruber S., Thalmann A., Schmidt H. L. — Tierärztliche Umschau, 1982, Bd. 37, S. 324—332.
Bartoš J., Matyaš L. — Vet. Med., 1983, vol 28, p. 189—192.
Bassir O., Alozie T. C. — Toxicon, 1979, vol. 17, p. 189—193.
Batt C. — J. Food Safety, 1983, vol. 5, p. 31—40.
Batt C., Solberg M., Ceponio M. — J. Food Sci., 1983, vol. 48, p. 762—764, 768.
Bendele S. A., Carlton W. W., Krogh P., Lillehoj E. B. — In Abstracts. The Third Intern. Mycological congress, Tokyo, 1983, p. 21.
Bennett G. A., Shotwell O. L. — J. Amer. Oil Chem. Soc., 1979, vol. 56, p. 812—819.

Bennett G. A., Vandegraft E. E., Shotwell O. L. et al. — Cereal Chem., 1978, vol. 55, p. 455—461.
Bennett J. W., Lee L. S., Shoss S. M., Boudreaux G. H. — Appl. Environm. Microbiol., 1980, vol. 39, p. 835—839.
Bennett R. A., Essigmann J. M., Wogan G. N. — Cancer Res., 1981, vol. 41, p. 650—654.
Berde B., Schield H. O. (Eds.) — Ergot alkaloids and related compounds. Handbook of experimental pharmacology. Vol. 49, Springer-Verlag, New York, 1978 — 1003 p.
Berndt W. O., Hayes A. W., Phillips R. D. — Kidney Intern., 1980, vol. 18, p. 656—664.
Berndt W. O., Hayes A. W., Bagget M. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 74, p. 78—85.
Bhatnagar R. K., Ahmad S., Kohli K. K. et al. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1982, vol. 104, p. 1287—1292.
Bjeldanes L. F., Thomson S. V. — Appl. Environm. Microbiol., 1979, vol. 37, p. 1118—1121.
Blaney B. J. — J. Appl. Toxicology, 1982, vol. 2, p. 83—87.
Blaney B. J., Bloomfield R. C., Moore C. J. — Australian Vet. J., 1984, vol. 61, p. 24—27.
Bodine A. B., O'Dell G. D., Jansen J. J., Bishop J. R. — J. Dairy Sci., 1982, vol. 65, p. 2174—2177.
Bodine A. B., Fisher S. F., Gangjee S. — J. Dairy Sci., 1984, vol. 67, p. 110—114.
Boorman G. A., Hong H. L., Dieter M. P. et al. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 72, p. 304—312.
Boshet J.-C. — Rapp. CEA, 1977, N 4833, 135 p.
Bourgeois C. H., Shank R. C., Grossman R. A. et al. — Lab. Invest., 1971, vol. 24, p. 206—216.
Boutibonnes P. — Mycopathologia 1979, vol. 69, p. 117—120.
Boutibonnes P., Auffray J. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 32, p. 831—840.
Bove F. J. — The story of ergot. Karger. Basel, 1970.
Boyd J. N., Misslbeck N., Stoewsand G. S. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 66, p. 118—123.
Boyd J. N., Misslbeck N., Stoewsand G. S. — Food Chem. Toxicol., 1983, vol. 21, p. 37—40.
Boyd P. A., Wittliff J. L. — J. Toxicol. Environm. Hlth, 1978, vol. 4, p. 1—8.
Brackett R. E., Marth E. H. — J. Food Protect., 1979, vol. 42, p. 862—863.
Brown M. H., Szczech G. M., Purmalis B. P. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1976, vol. 37, p. 331—338.
Bryden W. L., Cumming R. B., Balnave D. — Brit. J. Nutr., 1979, vol. 41, p. 529—540.
Buchanan R. L., Shepherd A. J. — J. Food Sci., 1981, vol. 46, p. 976—977.
Bulatao-Jayme J., Almero E. M., Castro C. A. et al. — Int. J. Epidemiol., 1982, vol. 11, p. 112—119.
Bunge I., Dirheimer G., Roschenthaler R. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1978, vol. 83, p. 398—405.
Burdaspal P. A., Pinella L. — Rev. Agr. Techn. Alim., 1983, vol. 23, p. 287—290.
Burg W. R., Shotwell O. L. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1984, vol. 67, p. 309—312.
Burg W. R., Shotwell O. L., Saltsman B. E. — Amer. Ind. Hyg. Assoc. J., 1981, vol. 42, p. 1—11.
Burguera J. A., Edds G. T., Osuna O. — Amer. J. Vet. Res., 1983, vol. 44, p. 1714—1717.
Burmeister H. R., Ciegler A., Vesonder R. F. — Appl. Environm. Microbiol., 1979, vol. 37, p. 11—13.
Burmeister H. R., Grove M. D., Kwolek W. F. — Appl. Environm. Microbiol., 1980, vol. 40, p. 1142—1147.
Burmeister H. R., Hesseltine C. — Appl. Microbiol., 1966, vol. 14, p. 403—404.
Burmeister H. R., Hesseltine C. — Appl. Microbiol., 1970, vol. 20, p. 437—440.
Butler W. H. — In: Mycotoxins. — Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 1—28.

Butler W. H., Greenblatt B., Lijinsky W. — Cancer Res., 1969, vol. 29, p. 2206—2211.
Cacan M., Moreau S., Taillies R. — Toxicology, 1977, vol. 8, p. 205—212.
Cacan M., Moreau S., Taillies R. — Biochimie, 1978, vol. 60, p. 685—689.
Campbell A. D. — Pure Appl. Chem. 1979, vol. 52, p. 205—211.
Campbell T. C., Hayes J. R. — Toxicol. Appl. Pharmacol. 1976, vol. 35, p. 199—222.
Cannon M., Jimenez A., Vazquez D. — Biochem. J., 1976, vol. 160, p. 137—145.
Carlton W. W., Krogh P. — In: Conference on mycotoxins in animal feeds and grains related to animal health. FDA/BVM, 1979, p. 165—287.
Carlton W. W., Stack M. E., Eppley R. M. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1976, vol. 38, p. 455—459.
Carnaghan R. B. A. — Brit. J. Cancer, 1967, vol. 21, p. 811—814.
Castegnaro M., Hunt D. C., Sansone E. B. et al. *(Eds.)*. — IARC Publ. N 37, Lyon, 1980. — 59 p.
Chan P. K., Hayes A. W. — J. Amer. Oil Chem. Soc., 1981a, vol. 58, p. A1017—A1022.
Chan P. K., Hayes A. W., Meydrech E. F., Ciegler A. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1980a, vol. 55, p. 291—302.
Chan P. K., Hayes A. W., Siraj M. J. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, vol. 66, p. 259—268.
Chan P. K., Hayes A. W., Siraj M. J., Meydrech E. F. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 73, p. 195—203.
Chan P. K., Gentry P. A. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 73, p. 402—410.
Chang C.-F., Hamilton P. B. — Poultry Sci., 1979, vol. 58, p. 562—566.
Chang F. C., Chu F. S. — Food Cosmet. Toxicol., 1977, vol. 5, p. 199—204.
Chang H. L., DeVries J. W. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 913—917.
Chang K., Kurtz H. J., Mirocha C. J. — Amer. J. Vet. Res., 1979, vol. 40, p. 1260—1267.
Chelkowski J., Szebiotko K., Golinski P. et al. — Die Nahrung, 1982, Bd. 26, S. 1—7.
Chen F.-C., Chen C.-F., Wei R. D. — Toxicon, 1982, vol. 20, p. 433—441.
Chen J., Goetchius M. P., Combs G. F., Campbell T. C. — J. Nutr., 1982, vol. 112, p. 350—355.
Chi M. S., Robinson T. S., Mirocha C. J. et al. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978a, vol. 45, p. 391—402.
Chou C. C., Marth E. H., Shackelford R. M. — Amer. J. Vet. Res., 1976, vol. 37, p. 1227—1231.
Choudary C., Rao M. R. K. M. — Poultry Adviser. Bangalore, 1982, vol. 16, p. 75—76.
Christensen C. M. — In: Conference on mycotoxins in animal feeds and grains related to animal health. FDA/BVM, 1979, p. 1—79.
Chu F. S. — Biochem. Pharmacol., 1974, vol. 23, p. 1105—1113.
Chu F. S. — Microbiology, 1975, p. 359—371.
Ciegler A. — J. Food Protect., 1979, vol. 42, p. 825—828.
Ciegler A. — J. Food Safety, 1983, vol. 5, p. 23—30.
Ciegler A., Detroy R. W., Lillehoj E. B. — In: Mycrobial Toxins, vol. 6, New York, Acad. Press, 1971, p. 409—434.
Ciegler A., Vesonder R. F., Cole R. J. — In: Mycotoxins and other fungal related food problems. Washington, D. C., 1976, p. 163—177.
Cilievici O., Moldovan A., Chidus E. — Rev. roum. Morphol. Embryol. Physiol., 1980, vol. 26, p. 125—131.
Cirilli G. — In: Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects. Elsevier, 1983, p. 254—258.
Clark J. D., Jain A. V., Hatch R. C. — Amer. J. Vet. Res., 1982, vol. 43, p. 106—110.
Clifford J. I., Rees K. R., Stevens M. E. M. — Biochem. J., 1967, vol. 103, p. 258—261.
Cliveström G., Ljunggren H., Tegelström S., Tideman K. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 46, p. 400—405.

Cole R. J., Dorner J. W., Cox R. H., Roymond L. W. — J. Agr. Food Chem., 1983, vol. 31, p 655—657.
Cole R. J., Kirksey J. W., Cutler H. G. et al. — Science, 1973, vol. 179, p. 1324—1326.
Coles B. F., Welch A. M., Hertzog P. J. et al. — Carcinogenesis, 1980, vol. 1, p. 79.
Collins G. J., Rosen J. D. — J. Ass. Off. Anal. Chem., 1979, vol. 62, p. 1274—1280.
Coorey R., Kiessling K.-H., Lindahl-Kiessling K. — Food Chem. Toxicol., 1982, vol. 20, p. 893—898.
Cordiner S. J., Jordan T. W. — Biochem. J., 1983, vol. 212, p. 197—204.
Corongiu F. P., Milia A. — Res. commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1982, vol. 38, p. 97—112.
Cote L. M., Reynolds J. D., Vesonder R. F. et al. — J. A. V. M. A., 1984, vol. 184, p. 189—192.
Creppy E. E., Schlegel M., Röschenthaler R., Dirheimer G. — Toxicology Lett., 1980a, vol. 6, p. 77—80.
Creppy E. E., Stormer F. C., Kern D. et al. — Chem.— Biol. Interact., 1983a, vol. 47, p. 239—247.
Creppy E. E., Stormer F. C., Röschenthaler R., Dirheimer G. — Infection and Immunity, 1983b, vol. 39, p. 1015—1018.
Croy R. G., Essigmann J. M., Wogan G. N. — In: Organ and Species Specificity Chem. Carcinogenesis. Proc. Symp., Raleigh, N. C., March, 1981, New York—London, 1983, p. 49—60
Cucullu A. F., Lee L. S., Pons W. A., Stanley J. D. — J. Agr. Food Chem., 1976, vol. 24, p. 408—410.
Cysewski S. J., Pier A. C., Baetz A. L., Cheville N. F. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, vol. 65, p. 354—365.
Dalezios J. I., Wogan G. N. — Cancer Res., 1972, vol. 32, p. 2297—2303.
Dalvi R. R., Ademoyero A. A. — Avian Dis., 1984, vol. 28, p. 61—69.
Dashek W. V., Llewellyn G. C. — Post mikrobiol., 1982, vol. 21, p. 65—84.
Datta S. C., Ghosh J. J. — Assian J. pharmacol. Sci., 1979, vol. 1, p. 119.
Datta S. C., Ghosh J. J. — Toxicon, 1981a, vol. 19, p. 555—562.
Datta S. C., Ghosh J. J. — Toxicon, 1981b, vol. 19, p. 217—223.
Debeaupuis J. P., Lafont P. — Appl. Environm. Microbiol., 1978, vol. 36, p. 8—10.
Decad G. M., Dougherty K. K., Hsieh D. P. H., Byard J. L. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1979, vol. 50, p. 429.
Degen G. H., Neumann H. G. — Chem.-Biol. Interact., 1978, vol. 22, p. 239—255.
DeNicola D. B., Rebar A. H., Carlton W. W. — Food Cosmet. Toxicol., 1978, vol. 16, p. 601—609.
Deo M. G., Dayal Y., Ramalingaswami V. — J. Pathol., 1970, vol. 101, p. 47—56.
Desaiah D., Phillips T. D., Hayes A. W., Ho I. K. — J. Environm. Sci. Hlth, 1979, vol. B14, p. 265—278.
Detroy R. W., Lillehoj E. B., Ciegler A. — In: Microbial toxins, vol. 6, New York—London, Acad. Press, 1971, p. 3—178.
Di Menna M. E., Mantle P. G. — Res. Vet. Sci., 1978, vol. 24, p. 347—351.
Dogra S. C., Khanduja K. L., Gupta M. P., Sharma R. R. — Enzyme, 1983, vol. 30, p. 99—104.
Doherty W. P., Campbell T. C. — Chem.-Biol. Interact., 1973, vol. 7, p. 63—77.
Domngang F., Emerole G. — Biochem. Pharmacol., 1982, vol. 31, p. 2327—2330.
Dorner J. W., Cole R. J., Hill R. A. — J. Agr. Food Chem., 1984, vol. 32, p. 411—413.
Dorner J. W., Cole R. J., Lomax L. G. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 46, p. 698—703.
Dunn J. J., Lee L. S., Ciegler A. — Environm. Mutagenesis, 1982, vol. 4, p. 19—26.
Dvořačkova I. — Brit. med. J., 1976, vol. 20, p. 691.
Dvořačkova I., Kušak V., Vesely D. et al. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 977—990.
Dvořačkova I., Stora C., Ayraud N. — J. Cancer Res. Clinical Oncology, 1981, vol. 100, p. 221—224.
Dwivedi P., Burns R. B. — Res. Vet. Sci., 1984a, vol. 36, p. 92—103.

Dwivedi P., Burns R. B., Maxwell M. H. — Res. Vet. Sci., 1984, vol. 36, p. 104—116.
Edds G. T. — In: Conference on mycotoxins in animal feeds and grain related to animal health. FDA/BVM, 1979, p. 80—164.
Egbunike G. N. — Andrologia, 1982, vol. 14, p. 440—446.
Ehrlich K. C., Lee L. S., Ciegler A. — J. liquid Chromatography, 1983, vol. 6, p 833—843.
Eisele T. A., Loveland P. M., Kruk D. L. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1982, vol. 20, p. 407—412.
Elegbede J. A., West C. E., Audu A. A. — Microbial Lett., 1982, vol. 19, p. 77—84.
Elling F. — Acta Agr. Scand., 1983, vol. 33, p. 153—159.
Elling F., Hald B., Jacobsen C., Krogh P. — Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1975, vol. 83, p 739—741.
Emerit I., Amstad P., Cerutti P. — Mutat. Res., 1984, vol. 130, p. 198.
Emerole G. O., Uwaifo A. O., Thabrew M. I., Bababunmi E. A. — Cancer Lett., 1982, vol. 15, p. 123—129.
Engle G. — J. Chromatogr., 1979, vol. 170, p. 288—291.
Enomoto M., Meno I. — In: Mycotoxins. — Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 301—326.
Eppley R. M. — J. A. O. A. C., 1974, vol. 57, p 618—620.
Essigman J M., Croy R. G., Nadzan A. M. et al. — Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 1977, vol. 74, p. 1870—1874.
Eugenio C. P., Christensen C. M., Mirocha C. J. — Phytopathology, 1970, vol. 60, p. 1055—1057.
Evans M. A., Harbison R. D. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, vol. 39, p 13—22.
Fabry L., Roberfroid M. — Toxicol. Lett., 1981, vol. 7, p. 245—250.
Fahmy M. J., Fahmy O. G., Swenson D. H. — Cancer Res., 1978, vol. 38, p. 2608.
FAO. Perspective on mycotoxins. — Rome, 1979. — 167 p.
FAO/UNEP. Recommended Practices for the prevention of mycotoxins in Food, Feed and their products. — Rome, 1977.
Farah Z., Martins M. J. R., Bachman M. R. — Lebensm. — Wiss. Technol., 1983, Bd. 16, S. 122—124.
Floss H. G., Anderson J. A. — In: The biosynthesis of mycotoxins. A study in secondary metabolism. Acad Press. — New York—London, 1980 p 17—67.
Fonseca H., Nogulira J. A., Graner M. et al. — In: Proceedings 5th Int. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 76—79.
Francis O. J., Lipinski L. J., Gaul J. A., Campbell A. D. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1982, vol. 65, p. 672—676.
Frank H. K., Orth R., Figge A. — Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch., 1977, Bd. 163, S. 111—114.
Frape D. L., Wayman B. J., Tuck M. G. — Brit. J. Nutr., 1981, vol. 46, p. 315—326
Frape D L., Wayman B. J., Wilkinson J. — Nutr. Report Intern., 1981, vol. 23, p. 171—180.
Fremy J. M., Cariou T, Bonnet C. — In: Proceedings 5th Int. IUPAC Symp. on Mycitoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 80—83.
Friedman M., Wehr C. M., Schade J. E., MacGregor J. T. — Food Chem Toxicol., 1982, vol. 20, p. 887—892.
Friend S. C. E., Babink L. A., Schiefer H. B. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 69, p. 234—244.
Frisvad J. C., Filtenborg O. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol 46, p 1301—1310.
Fritz W., Buthig C., Engst R. — Nahrung, 1979 vol. 23, p 159—167
Fritz W., Engst R. — J. Environm. Sci. Hlth. 1981, vol 16, p 193—210
Fukayama M., Hsieh D. P. H. — Food Chem. Toxicol., 1984, vol. 22, p 355—360.
Gallagher R. T., Latch G. C. M., Keogh R. G. — Appl. Environm. Microbiol. 1980, vol. 39, p. 272—273.
Gallagher R. T., Richard J. L., Stahr H. M., Cole R. J. Mycopathologia, 1978, vol. 66, p. 31—36.

Galtean M. M. — Gen Pharmacol., 1981, vol. 12, p. A20.
Galtier P., Alvinerie M., Charpentean J. L. — Food Cosmet. Toxicol., 1981, vol. 19, p. 735—738.
Galtier P., Bonen B., Charpentean J. L. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1979, vol. 17, p. 49—53.
Galtier P., Charpentean J.-L., Alvinerie M., Labouche C. — Drug Metabolism Disposition, 1979, vol 7, p. 429—434.
Garner R. C., Martin C. N., Smith J. R. L. et al. — Chem.-Biol. Interact., 1979, vol. 26, p. 57—73.
Garner R. C., Miller E. C., Miller J. A. — Cancer Res., 1972, vol. 32, p. 2058—2066.
Garvican L., Rees K. R. — Chem.-Biol. Interact., 1974, vol. 11, p. 123—131.
Gaur P. K, Lau H. P., Pestka J, Chu F. S. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 41, p. 478—482.
Gentry P. A., Cooper M. L. — Can. J. comp. Med., 1981, vol. 45, p. 400—405.
Gentry P. A., Cooper M. L. — Amer. J. Vet. Res., 1983, vol. 44, p. 741—764.
Gentry P. A., Ross M. L., Chan P. K.-C. — Vet. Hnman Toxicol., 1984, vol. 26, p. 24—28.
Gerberick G. F., Sorenson W. G., Lewis D. M. — Environm. Res., 1984, vol. 33, p. 246—260.
Ghosal S., Chakrabarti D. K., Chaudhary K. C. — Experientia, 1977, vol. 33, p. 574—575.
Giambrone J. J, Davis N. D., Diener M. L. — Poultry Sci., 1978, vol. 57, p. 1544—1558.
Giambrone J. J., Ewert D. L., Wyatt R. D., Eidson C. S. — Amer. J. Vet. Res., 1978, vol. 39, p. 305—308.
Gibel W, Wegner K., Wildner G. P. — Arch. Geschwulstforsch., 1971, Bd. 38, S. 1—6.
Gilani S. H, Bancroft J., Relly M. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, vol. 46, p. 543—546.
Gilbert J., Shepherd M. J., Startin J. R. — J. Sci. Food Agrical., 1983, vol. 34, p. 86—92.
Gimeno A. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 565—569.
Gimeno A., Martins M. L. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 85—91.
Goodwin W., Haas C. D., Fabian C. et al. — Cancer, 1978, vol. 42, p. 23—26.
Gopalan C., Tulpule P. G., Krishnamurthi D. — Food Cosmet. Toxicol., 1972, vol. 10, p. 519—521.
Gregory J. F., Monley D. — J. Assoc. Off. Anal. Chom., 1981, vol. 64, p. 144—151.
Griffin G. F., Chu F. S. — Appl. Environm. Microhiol., 1983, vol. 46, p. 1420—1422.
Groopman J. D., Busby W. F., Wogan G. N. — Cancor Res., 1980, vol. 40, p. 4343—4351.
Grosman M. E, Elias M. M., Comin E. J., Garay E. A. R. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 69, p. 319—325.
Guengerich F. P. — Biochem. Pharmacol., 1979, vol. 28, p. 2883.
Gunasekaran M. — Mycologia, 1981, vol. 73, p. 697—704.
Gunst K., Chinnici J. P., Llewellyn G. C. — J. Invertebrate Pathol., 1982, vol. 39, p. 388—394.
Gupta J., Pathak B., Sethi N., Vora V. C. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 41, p. 752—757.
Gupta M, Sasmal D., Bandyopathy S. et al. — Toxicology, 1983, vol. 26, p. 55—62.
Gupta S. K, Maggon K. K., Venkitasubramanian T. A. — Microbios Lett., 1976, vol. 3, p. 89—92.
Gurtoo H. L., Dahms R. P. — Biochem. Pharmacol., 1979, vol. 28, p. 3441—3449.
Gurtoo H. L., Motycka L. E., Parker N. — J. Med., 1976, vol. 7, p. 1—12.
Häggblom P. — Appl. Envirom. Microbiol, 1982, vol. 43, p. 1205—1207.
Hagler W. M., Tyczkowska K., Hamilton P. B. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 151—154.

Hald B., Christensen D. H., Krogh P. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 46, p. 1311—1317.
Halver J. E. — In: Aflatoxin. New York—London. Acad. Press, 1969, p. 265—306.
Hamada A. S., Megalla S. E. — Mycopathologia, 1982, vol. 79, p. 3—8.
Hamilton P. B. — Fed. Proc., 1977, vol. 36, p. 1899—1902.
Hanigan H. M., Laishes B. A. — Toxicology, 1984, vol. 30, p. 185—193.
Hanika C., Carlton W. W., Tuite J. — Food Chem. Toxicol., 1983, vol. 21, p. 487—493.
Harland E. C., Cardeilhac P. T. — Amer. J. Vet. Res., 1975, vol. 36, p. 909—912.
Harrach B., Bata A., Bajmocy E., Benko M. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 1419—1422.
Harran D. J., Pero R. W. — In: Mycotoxins and other fundal relat. Food Problem. — Washington, D. C., 1976, p. 344—355.
Harwig J. — In: Mycotoxins.—Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 345—367.
Haubeck H. D., Lorkowski G., Kölsch E., Röschenthaler R. — Appl. Envirom. Microbiol., 1981, vol. 41, p. 1040—1042.
Hayes A. W. — Mycopathologia, 1978, vol. 65, p. 29—41.
Hayes A. W., Cain J. A., Moore B. G. — Food Cosmet. Toxicol., 1977, vol. 15, p. 23—27.
Hayes A. W., Fedorowski T. — IARC Sci. Publ., N 44, 1982, p. 419—422.
Hayes A. W., Hood R. D. — Toxicon, 1978, vol. 16, p. 92—96.
Hayes A. W., Hood R. D., Lee H. L. — Teratology, 1974a, vol. 9, p. 93—98.
Hayes A. W., Phillips R., Wallace L. C.—Toxicon, 1977, vol. 15, p. 293—300.
Hayes A. W., Phillips T. D., Williams W. L., Ciegler A. — Toxicology, 1979, vol. 13, p. 91—100.
Hayes M. A., Bellamy J. E. C., Schiefer H. B. — Canad. J. Comp. Med., 1980, vol. 44, p. 203—218.
Hayes M. A., Schiefer H. B. — J. Appl. Toxicol., 1982, vol. 2, p. 207—212.
Hayes M. A., Wobeser G. A. — Can. J. Comp. Med., 1983, vol. 47, p. 180—187.
Hayes R. B., Van Nieuwenhuize J. P., Raatgever J. W., Ten Kate F. J. W. — Food Chem. Toxicol., 1984, vol. 22, p. 39—43.
Hendrickse R. G., Coulter J. B. S., Lamplugh S. M. et al. — British Med. J., 1982, vol. 285, p. 843—846.
Hendrickse R. G., Coutler J. B. S., Lampluch S. M. et al. — Bull. Soc. pathol. exot., 1983, vol. 76, p. 559—566.
Hesseltine C. W., Rogers R. F. — Mycologia, 1982, vol. 74, p. 423—426.
Hesseltine C. W., Rogers R. F., Shotwell O. — Mycologia, 1978, vol. 70, p. 14—18.
Hidy P. H., Baldwin R. S., Greasham R. L. et al. — Adv. Appl. Microbiol., 1977, vol. 22, p. 59—82.
Hintikka E.-L. — In: Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects, Elsevier, 1983, p. 221—228.
Hood R. D., Kuczuk M. H., Szczech G. M. — Teratology, 1978, vol. 17, p. 25—39.
Horvath E., Biro Z., Andrassy K., Horvath I. — Orvosi Hetilap, 1982, vol. 123, p. 1235—1239.
Hsieh D. P. H., Wong J. J. — In: Biol. React. Intermed. 2. Proc. 2nd Int. Symp. Guildford, 14—17 July, 1980. Pt. B. New York—London, 1982, p. 847—863.
Hsu I. C., Smalley E. B., Strong F. M., Ribelin W. E. — Appl. Microbiol., 1982, vol. 24, p. 684—690.
Huff W. E., Doerr J. A. — Poultry Sci., 1981, vol. 60, p. 550—555.
Huff W. E., Doerr J. A., Hamilton P. B., Vesonder R. F. — Poultry Sci., 1981, vol. 60, p. 1412—1414.
Hult K., Plestina R., Habazin-Novak V. et al. — Arch. Toxicol., 1982, vol. 51, p. 313—321.
Hutchison R. D., Steyn P. S., van Rensburg S. J. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1973, vol. 24, p. 507—509.
IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man: Some naturally occuring substances — Lyon, 1976, vol. 10. — 353 p.
IARC publications N 44. Environmental carcinogens selected methods of analysis, vol. 5, Some mycotoxins. — Lyon, 1982. — 455 p.

Ichinoe M., Kurata H. — In: Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects, Elsevier, 1983, p. 73—82.
Ikegwuonu F. I. — Toxicology, 1983, vol. 28, p. 247—259.
Ito Y. — Agr. Biol. Chem., 1979, vol. 43, p. 1237—1242.
Ito H., Watanabe K., Koyama J. — J. Pharm. Dyn., 1982, vol. 5, p. 403—409.
Ito Y., Ohtsubo K., Saito M. — Jap. J. Exp. Med., 1980, vol. 50, p. 167—172.
Jagadeesan V., Rukmini C., Vijayaraghavan M., Tulpule P. G. — Food Chem. Toxicol., 1982, vol. 20, p. 83—87.
Jarvis B. B., Pavanasasivam G., Bean G. A. — In: Proceedings 5th Int. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 174—177.
Jemmali M. — Pure Appl. Chem., 1979, vol. 52, p. 175—181.
Jewers K. — Royal Society of Health J., 1982, vol. 102, p. 114—118.
Jones F. T., Hagler W. M., Hamilton P. B. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 478—480
Jordan W. H., Carlton W. W., Sansing G. A. — Food Cosmet. Toxicol., 1978a, vol. 16, p. 441—447.
Jordan W. H., Carlton W. W., Sansing G. A. — Food Cosmet. Toxicol., 1978b, vol. 16, p. 355—363.
Kamdem L., Margalou J., Siest G. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1981a, vol. 60, p. 570—578.
Kamdem L., Magdalou J., Siest G. et al. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 67, p. 26—40.
Kamenova B. B., Hadjiolov A. A., Krustev L. P., Dabeva M. D. — Compt. rendus de l'Academie bulg. Sci., 1981, vol. 34, p. 1733—1736.
Kamimura H., Nishijima M., Saito K. et al. — J. Food Hyg. Soc. Japan, 1979, vol. 20, p. 352—357.
Kamimura H., Nishijima M., Yasuda K. et al. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1981, vol. 64, p. 1067—1073.
Kanisawa M. — In: The Third Intern. Mycological Congress Abstracts, Tokyo, 1983, p. 136.
Kanisawa M., Sasaki S. — Gann, 1978, vol. 69, p. 559—600.
Katzenellenbogen B. S., Katzenellenbogen J. A., Mordecia D. — Endocrinology, 1979, vol. 105, p. 33—40.
Kawabata Y., Tashiro F., Ueno Y. — J. Biochem., 1982, vol. 91, p. 801—808.
Kawai K., Nakamaru T., Mori H. et al. — In: The Third Intern. Mycological Congress Abstracts, Tokyo, 1983, p. 498.
Kazanas M., Ely R. W., Fields M. L., Erdman J. W. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 1118—1125.
Khera K. S., Whalen C., Angers G. et al. — Bull. Environm. Contam. Toxicol., 1982, vol. 29, p. 487—491.
Kiessling K.-H., Pettersson H. — Acta pharmacol. et Toxicol., 1978, vol. 43, p. 285—290.
Klinkert W., Lorkowski G., Creppy E. E. et al. — Toxicol. Eur. Res., 1981, vol. 3, p. 185—189.
Kriek N. P. J., Kellerman T. S., Marasas W. F. O. — Onderstepoort J. vet. Res., 1981a, vol. 48, p. 129—131.
Kriek N. P. J., Marasas W. F. O., Thiel P. G. — Food Cosmet. Toxicol., 1981b, vol. 19, p. 447—456.
Krishnamachari K. A. V. R., Bhat R. V., Nagarajan V., Tilak T. B. G. — Lancet, 1975, N 1, p. 1061—1066.
Krogh P. — Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1978, sec. A, Suppl. N 269, 28 p.
Krogh P. — In: Current research in endemic (Balkan) nephropathy. — Niš, 1983, p. 11—14.
Krogh P., Nesheim S. — IARC Sci. Publ. N 44, 1982, p. 247—253.
Krustev L. P., Kamenova B. B. — Gegebaurs morph. Jahrb., Leipzig, 1981, Bd. 127, S. 12—19.
Kuczuk M. H., Benson P. M., Heath H., Hayes A. W. — Mutat. Res., 1978, vol. 53, p. 11—20.
Kumagai S., Aibara K. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, vol. 64, p. 94—102.
Kyriakidis N., Waight E. S., Day J. B., Mantle P. G. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 42, p. 61—62.

Labouche C. — Cah. Nutr. et diet., 1976, N 2, suppl., p. 17—22.
Lafarge-Frayssinet C., Decloitre F., Mousset S. et al. — Mut. Res., 1981, vol. 88, p. 115—123.
Lafont J., De la Baume R. S., Lafout P. — Cah. nutr. et diet., 1976, N 2, suppl., p. 59—69.
Lafont P., Debeaupuis J. P. — IARC Sci. Publ. N 44, 1982, p. 365—388.
Lafont P., Siriwardana M. G., Combemale J., Lafont J. — Food Cosmet. Toxicol., 1979, vol. 17, p. 147—149.
Lansden J. A., Davidson J. I., — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 766—769.
Lau H. P., Chu F. S. — J. Ass. Ofic. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 98—101.
Lee D. J., Sinnhuber R. O., Wales J. H., Putnam G. B. — J. Natl. Cancer. Inst., 1978, vol. 60, p. 317—320.
Lee L. S., Bennett J. W., Cucullu A. F., Ory R. L. — J. Agr. Food chem., 1976, vol. 24, p. 1167—1170.
Lee S. C., Beery J. T., Chu F. S. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 72, p. 218—227.
Lee S., Chu F. S. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1981a, vol. 64, p. 156—161.
Leistner L. — In: The Third Intern. Mycological Congress Abstracts, Tokyo, 1983, p. 162.
Leuenberger M., Gauch R., Baumgartner E. — J. Chromatogr., 1978, vol. 161, p. 303—309.
Lillehoj E. B. — J. Amer. Oil. Chem. Soc., 1981, vol. 58, p. A970—A973.
Lillehoj E. B. — J. Theor. Biol., 1982, vol. 97, p. 325—332.
Lillehoj E. B., Elling F. — Acta Agricult. Scand., 1983, vol. 33, p. 113—128.
Lillehoj E. B., Kwolek W. F., Elling F., Krogh P. — Mycopathologia, 1979, vol. 68, p. 175—177.
Liu J. K., Kennan K. A., Miller E. C., Miller J. A. — Cancer Res., 1978, vol. 38, p. 2424—2428.
Lindroth S. — Publ. Mater. and Process. Technol. Techn. Res. Cent. Finland, 1980, N 24, 46 pp.
Ling K. H., Liou H.-H., Yang C. M., Yang C.-K. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 98—100.
Ling K. H., Yang C.-K., Kuo C. A., Kuo M. D. — Appl. Environm. Microbiol., 1982, vol. 44, p. 860—863.
Linsell A. — In: IARC Sci. Publ., N 44, 1982, p. 3—14.
Linsell C. A. — J. Cancer Res. Clin. Oncology, 1981, vol. 99, p. 51—58.
Llewellyn G. C., Thomen L. E., Katsen J. S. — J. Environm. Sci. Hlth, 1981, vol. 16, p. 211—225.
Loew G. H., Poulsen M. T. — Int. J. Quant. Chem., 1981, vol. 8, p. 95—107.
Long D. A. — Br. Med. J., 1982, vol. 285, p. 1208—1209.
Lotlikar P. D., Jhee E. C., Insetta S. M., Clearfield M. S. — Carcinogenesis, 1984, vol. 5, p. 269—276.
Loveland P. M., Nixon J. E., Bailey G. S. — Comp. Biochem. Physiol., 1984, vol. 78 C, p. 13—19.
Lu S. H., Lin P. — Z. Gastroenterologie, 1982, Bd. 20, S. 361—367.
Lüthy J., Zweifel U., Schlatter Ch. — Food Cosmet. Toxicol., 1980, vol. 18, p. 253—256.
Lutsky I., Mor N. — Lab. Anim. Sci., 1981, vol. 31, p. 43—47.
Lutwick L. I. — Lancet, 1979, vol. 1, p. 755—757.
Madhavan T. V., Gopalan C. — Arch. Pathol., 1965, vol. 80, p. 123—126.
Madhavan T. V., Gopalan C. — Arch. Pathol., 1968, vol. 85, p. 133—137.
Madsen A., Hald B., Mortensen H. P. — Acta Agricult. Scand., 1983, vol. 33, p. 170—175.
Magan N., Cayley G. R., Lacey J. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 1113—1117.
Maggon K. K., Gupta S. K., Venkitasubramanian T. A. — Bacteriol. Rev., 1977, vol. 41, p. 822—855.
Mainigi K. D. — Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1983, vol. 40, p. 329—332.

Mainigi K. D., Campbell T. C. — J. Toxicol. Environm. Hlth, 1980, vol. 6, p. 659—671.
Mann D. D., Buening G. M., Hook B. S., Osweiler G. D. — Infect. and Immun., 1982, vol. 36, p. 1249—1252.
Marasas W. F. O., Kriek N. P. J., Wiggins V. M. et al. — Phytopathology, 1979, vol 69, p. 1181—1185.
Marasas W. F. O., Smalley E. B., Bamburg J. R., Strong F. M. — Phytopathology, 1971, vol. 61, p. 1488—1491.
Marasas W. F. O., Van Rensburg S. J., Mirocha C. J. — J. Agr. Food Chem., 1979, vol. 27, p. 1108—1112.
Marsh P. B., Simpson M. E. — J. Environm. Qual., 1984, vol. 13, p. 8—17.
Marth E. H., Doyle M. P. — Food Technol., 1979, vol. 33, p. 81—87.
Martin P. M., Keen P. — Sabroudia, 1978, vol. 16, p. 15—22.
Martin W., Lorkowski G., Creepy E. E. et al. — In: Proceedings 5th Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins. Vienna, 1982, p. 305—308.
Marzuki A., Norred W. P. — Food Chem. Toxicol., 1984, vol 22, p 383—389.
Masimango N., Remacle J., Ramaut J. L. — Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1978, vol. 6, p 101—105.
Masri M. S., Hendricks J. D., Sinnhuber R. O. — Toxicon, 1979, vol. 17, suppl. N 1, p. 116—117.
Masuda E., Takemoto T., Tatsuno T., Obara T. — Immunology, 1982a, vol. 45, p 743—749
Masuda E., Takemoto T., Tatsuno T., Obara T. — Immunology, 1982b, vol. 47, p. 701—707.
Mathur M., Singhal V., Nayak N. C. — In: dian J. Med. Res., 1983, vol. 77, p. 668—678.
Matsumoto H., Ito T., Ueno Y. — Japan. J. Exp. Med., 1978, vol 48, p. 393—399.
Matsuoka Y., Kubota K. — J. Pharm. Dyn., 1982, vol. 5, p 193—199
Matsuoka Y., Kubota K., Ueno Y. — Toxicol. Appl Pharmacol., 1979, vol. 50, p. 87—94
Maurice D. V., Bodine A. B., Rehrer N. J. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 980—984.
McKinley E. R., Carlton W. W. — Food Cosmet. Toxicol., 1980a, vol. 18, p. 173—179, 181—187.
McKinley E. R., Carlton W. W., Boon G. D. — Food Chem. Toxicol., 1982, vol. 20, p. 289—300.
Mehan V. K., McDonald D., Gibbsons R. W. — Oleagineux, 1982, vol. 37, p. 185—191.
Mehdi N. A. Q., Carlton W. W., Boon G. D., Tuite J. — Vet. Pathol., 1984, vol. 21, p. 216—223.
Mehdi N. A. Q., Carlton W. W., Tuite J. — Avian Pathol., 1983, vol. 12, p. 221—233.
Meisner H., Cimbala M., Hanson R. W. — Arch. Biochem. Biophys., 1983, vol. 223, p. 264—270.
Meisner H., Selanik P. — Biochem J., 1979, vol 180, p. 681—684.
Metcalfe S. A., Colley P. J., Neal G. E. — Chem.-Biol. Interact., 1981, vol. 35, p. 145—157.
Meyer R. A. — Lebensmittelindustrie, 1978, Bd 25, S. 224—225.
Migdalof B. H., Dugger H. A., Heider J. G. et al. — Xenobiotica, 1983, vol. 13, p 209—221.
Mirocha C. J. — In: Conference on mycotoxins in animal feeds and grains related to animal health. FDA/BVM, 1979, p. 289—373.
Mirocha C. J. — In: Trichothecenes: Chemical, biological and toxicological aspects, Elsevier, 1983a, p. 177—194.
Mirocha C. J. — In: The Third Intern. Mycological congress, Astracts. Tokyo, 1983b, p. 190.
Mirocha C. J., Christensen C. M. — In: Mycotoxins, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 129—148.
Mirocha C. J., Pathre S. V., Behrens J., Schauerhamer B. — Appl. Environm. Microbiol., 1978a, vol. 35, p. 986—987.

Mirocha C. J., Pathre S. V., Christensen C. M. — In: Advances in Cereal Science and Technology. Vol. 3, Amer. Assoc. Cereal Chem., Inc. St. Paul, Minnesota, 1980, p. 159—225.
Mirocha C. J., Robinson T. S., Pawlowsky R. J., Allen N. K. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, vol. 66, p. 77—87.
Misra R. S., Sinha K. K. — Indian Phytopathol., 1982, vol. 35, p. 379—383.
Misra R. S., Sinha K. K., Singh P. — Nat. Acad. Sci. Letters, 1981, vol. 4, p. 123—124.
Moore M. R., Pitot H. C., Miller E. C., Miller J. A. — J. Natl. Cancer Inst., 1982, vol. 68, p. 271—278.
Morean S., Lablache-Combier A., Biguet J. — Appl. Environm. Microbiol., 1980, vol. 39, p. 770—776.
Morel-Chany E., Lafarge-Frayssinet C., Trincal G. — Toxicol. Eur. Res., 1981, vol. 3, p. 125—129.
Morgan M. R., McNerney R., Chan H. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 1481—1484.
Moss E. J., Judah D. J., Przybylski M., Neal G. E. — Biochem. J., 1983, vol. 210, p. 227—233.
Moss M. O., Badii F. — Appl. Environm. Microbiol., 1982, vol. 43, p. 895—898.
Moulé Y., Douce C., Moreau S., Darracq N. — Chem.-Biol. Interact., 1981, vol. 37, p. 155—164.
Moulé Y., Hatey F. — FEBS Lett., 1977, vol. 74, p. 121—125.
Moulé Y., Moreau S., Aujard C. — Mutat. Res., 1980, vol. 77, p. 79—89.
Moulé Y., Jemmali M., Rousseau N. — Chem.-Biol. Interact., 1976, vol. 14, p. 207—216.
Munday R. — Chem.-Biol. Interact., 1982, vol. 41, p. 361—374.
Munsch N., Müller E. G. — Immunopharmacology, 1980, vol. 2, p. 313—318.
Mycotoxins./Ed. L. F. H. Purchase. — Amsterdam, Elsevier, 1974. — 443 p.
Neal G. E. — Biochem. Pharmacol., 1972, vol. 21, p. 3023—3033.
Neal G. E., Colley P. J. — FEBS Lett., 1979, vol. 101, p. 382—386.
Neal G. E., Judah D. J., Stirpe F., Patterson D. S. P. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1981, vol. 58, p. 431—437.
Neish G. A., Farnworth E. R., Greenhalgh R., Young J. C. — Can. J. Plant Pathology, 1983, vol. 5, p. 11—16.
Nesheim S. — U. S. Dep. Commer. Nat. Bur. Stand. Spec. Publ., 1979, N 519, p. 355—372.
Newberne P. M., Butler W. H. — Cancer Res., 1969, vol. 29, p. 236—250.
Newberne P. M., Suphakarn V. — Cancer, 1977, vol. 40, p. 2553—2556.
Ngindu A. — Lancet, 1982, vol. 1, p. 1346—1348.
Nicolov I. G., Chernozemsky I. N., Petkova-Bocharova T. et al. — Europ. J. Cancer, 1978, vol. 14, p. 1237—1242.
Nip W. K., Chu F. S. — J. Environm. Sci. Hlth, 1979, Bd. 14, p. 319—333.
Niranjan B. G., Avadhani N. G. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1980, vol. 94, p. 1021—1026.
Niranjan B. G., Bhat N. K., Avadhani N. G. — Science, 1982, vol. 215, p. 73—75.
Nixon J. E., Coulombe R. A., Bailey G. S. — Carcinogenesis, 1984, vol. 5, p. 29—33.
Nixon J. E., Hendricks J. D., Pawlowski N. E. et al. — J. Natl. Cancer Inst., 1981, vol. 66, p. 1159—1163.
Norred W. P., Morrissey R. E. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 70, p. 96—104.
Norris P. J., Smith C. C. T., DeBelleroche J. et al. — J. Neurochem., 1980, vol. 34, p. 33—42.
Obidoa O., Babatunmi E. A., Bassir O. — Biochem. Med., 1980, vol. 23, p. 127—132.
Obidoa O., Ndubuisi I. E. — Mycopathologia, 1981, vol. 74, p. 3—6.
Obidoa O., Obunwo C. C. — Biochem. Med., 1979, vol. 22, p. 27—32.
O'Brien K., Moss E., Judah D., Neal G. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1983, vol. 114, p. 813—821.
Ohta M., Matsumoto H., Ishii K., Ueno Y. — J. Biochem., 1978, vol. 84, p. 697—706.

Olsen M., Kiessling K.-H. Acta pharmacol. et toxicol., 1983, vol. 52, p. 287—291.
Ong T.-M. — Mutat. Res., 1975, vol. 32, p. 35—53.
Onyemelukwe G. C., Ogbadu G. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1981, vol. 75, p. 780—782.
Onyemelukwe G. C., Ogbadu G. H., Salifu A. — Toxicol. Lett., 1982, vol. 10, p. 309—312.
Osborne B. G., Watson R. D. — J. Agr. Sci., 1980, vol. 95, p. 239—240.
Osuna O., Edds G. T. — Amer. J. Vet. Res., 1982, vol. 43, p. 1387—1394.
Otero V. O. — Hygia Pecoris, 1982, vol. 4, p. 27—51.
Otokawa M. — In: Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects. Elsevier, 1983, p. 163—170.
Otokawa N., Shibahara Y., Egashira Y. — Jap. J. Med. Sci. Biol., 1979, vol. 32, p. 37—45.
Pace J. G. — Toxicon, 1983, vol. 21, p. 675—680.
Palmgren M. S., Lee L. S., Delucca A. J., Ciegler A. — Amer. Ind. Hyg Assoc. J., 1983, vol. 44, p. 485—488.
Parpia H. A. B. — In: Control of the microbial contamination of foods and feeds in international trade: microbial standards and specifications. — Tokyo, Saikon Publ. Co., 1982, p. 203—211.
Passi S., Nazzaro-Porro M., Fanelli C. et al. — Appl. Microbiol. Biotechnol., 1984, vol. 19, p. 186—190.
Patterson D. S. P. — Food Cosmet. Toxicol., 1973, vol. 11, p. 287—294.
Patterson D. S. P. — Cah. nutr. et diet., 1976, N 2, Suppl., p. 71—76.
Patterson D. S. P., Roberts B. A., Shreeve B. J. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1979, vol. 37, p. 172—173.
Patterson D. S. P., Shreeve B. J., Roberts B. A. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 42, p. 916—917.
Paul P. S., Johnson D. W., Mirocha C. J. et al. — Amer. J. Vet. Res., 1977, vol. 38, p. 2033—2035.
Pavlović M., Plestina R., Krogh P. — Acta pathol. microbiol. scand. Sect. B, 1979, vol. 87, p. 243—246.
Peers F. G., Linsell C. A. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 1005—1018.
Pepeljnjak S., Balzer I. — Poseb. izd. Akad. nauka i umjetn Bi H. Od. med. nauka, 1982, vol. 60, p. 75—80.
Pepeljnjak S., Blaževic N. — In: Proc. 5th Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 102—105.
Pepeljnjak S., Cvetnic Z. — Vet. Archiv., 1981, vol. 51 (suppl.), p. 101—103.
Perera K. P. W. C., Day J. B., Mantle P. G. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1982, vol. 43, p. 503—508.
Pestka J. J., Beery J. T., Chu F. S. — Food Chem. Toxicol., 1983, vol. 21, p. 41—48.
Peters H., Dierich M. P., Dose K. — Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1982, Bd. 363, S. 1437—1441.
Peterson D. W., Bradford H. F., Mantle P. G. — Biochem. Pharmacol., 1982, vol. 31, p. 2807—2810.
Pfleger R., Brandl E. — Wien. tierärztl. Monatsschr., 1980, Bd. 67, S. 101—106.
Phillips D. L., Yourtee D. M., Searles S. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1976, vol. 36, p. 403—406.
Phillips R. D., Berndt W. O., Hayes A. W. — Toxicology, 1979, vol. 12, p. 285—298.
Phillips R. D., Hayes A. W. — Toxicon, 1978, vol. 16, p. 351—359.
Pienaar J. G., Kellerman T. S., Marasas W. F. O. — J. South African. Vet. Ass., 1981, vol. 52, p. 21—24.
Pier A. C. — Adv. in vet. Sci. and comp. Med., vol. 25, New York oct., 1981, p. 185—243.
Pier A. C., Tiehter R. E., Cysewski S. J. — Ann. nutr. et alim., 1977, vol. 31, p. 781—788.
Plattner R. D., Bennett G. A. — J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 1470—1477.

Pohland A. E., Mislivec P. — In: Mycotoxins and other fungal related food problems. Washington, D. C., 1976, p. 110—143.
Pohland A. E., Thorpe C. W., Nesheim S. — Pure Appl. Chem., 1980, vol. 52, p. 213—223.
Pollock G. A., DiSabatino C. E., Heimsch R. C. et al. — J. Environm. Sci. Hlth, 1982a, vol. B17, (2), p. 109—124.
Pollock G. A., Disabatino C. E., Heimsch R. C. et al. — Food Chem. Toxicol., 1982b, vol. 20, p. 899—902.
Polonelli L., Lauriola L., Morace G. — Mycopathologia, 1982, vol. 78, p. 125—127.
Pong R. S., Wogan G. N. — Cancer Res., 1970, vol. 30 p. 294—304.
Powell-Jones W., Raeford S., Lucier G. W. — Mol. Pharmacol., 1981, vol. 20, p. 35—42.
Prasanna H. R., Gupta S. R., Viswanathan L. et al. — Environm. Physiol. Biochem., 1975, vol. 5, p. 341—347.
Preston R. S., Hayes J. R., Campbell T. C. — Life Sci., 1976, vol 19, p. 1191—1198.
Price K. — Biomed. Mass Spectrom., 1979, vol. 6 p. 573—574.
Prince L. O., Campbell T. C. — Cancer Res., 1982, vol 42, p. 5053—5059.
Prior M. G., Sisodia C. S. — Can. J. comp. Med., 1982, vol. 46, p. 91—96
Priyadarshini E., Tulpule P. G. — Food Toxicol., 1980, vol. 18, p. 367—369.
Purchase I. F. H. — Food Cosmet. Toxicol., 1967, vol. 5, p. 339—342.
Purchase I. F. H. — In: Mycotoxins. Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 149—162.
Purchase I. F. H., van der Watt J. J. — Food Cosmet. Toxicol., 1970, vol. 8, p. 289—295.
Qutet S. M., Shehata A. M. El-T., Mesallam A. S. — Food Chem., 1963, vol. 10, p. 149—153.
Rabie C. J., Lübben A., Louw A. I. et al. — J. Agr. Food Chem., 1978, vol. 26, p. 375—379.
Rabie C. J., Marasas W. F. O., Thiel P. G. et al — Appl. Environm. Microbiol., 1982, vol. 43, p. 517—521.
Rabie C. J., Meyer C. Y., Van Heerden L. et al. — Can. J. Microbiol., 1981, vol. 27, p. 962—967.
Rafai P., Tuboly S. — Zbl. Veterinarmed., 1982, Bd. 29, S 558—565.
Rao V. M., Saraswathy S., Maggon K. K. et al. — J. Food Sci., 1980, vol. 45, p. 1031—1035.
Rati E. R., Basappa S. C., Murthy V. S. et al. — J. Food. Sci. Technol., 1981, vol. 18, p. 176.
Reddy C. S., Chan P. K., Hayes A. W. — Toxicology, 1978, vol. 11 p. 219—223.
Reddy G. S., Tilak T. B. G., Krishnamurthi D. — Food Cosmet. Toxicol., 1973, vol. 11, p 467—470.
Reddy J. K., Svobody D. J. — Fed Proc., 1975, vol. 34, p 827.
Reddy R. V., Mayura K., Berndt W. O. et al. — Toxicology, 1982, vol. 25, p. 151—160.
Reiss J. — Zeitschr. Allgem. Microbiol., 1978, Bd 18, S. 747—757.
Reiss J. — Mycopathologia, 1983, vol 81, p. 187—189
Reiss J. — Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch., 1983, Bd. 176, S 36—39
Ribelin W. E., Fukushima K., Still P. E. — Can. J. Comp. Med., 1978, vol 42, p 172—176
Rice D. W., Hsieh D. P. H. — Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1982, vol. 35, p. 467—490.
Righter H. F., Shalkop W. T., Mercer H. D., Leffel E. C. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1972, vol. 21, p. 435—439.
Rihn B. H., Dirheimer G., Lugnier A. A. J. — In: Proceedings 5th Intern. IUPAC Symp. on mycotoxins and phycotoxins, Vienna, 1982 p. 317—320.
Robb J., Norval M. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 46, p. 948—950
Robinson T. S., Mirocha C. J., Kurtz H. J. et al. — J. Dairy Sci., 1979, vol 62, p. 637—641.
Rodrick J. V., Eppley R. M. — In: Mycotoxins, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 181—197.

Roebuck B. D., Siegel W. G., Wogan G. N. — Cancer Res., 1978, vol. 38, p. 999—1004.
Rogers A. E., Lenhart G., Morrison G. — Cancer Res., 1980, vol. 40, p. 2802—2807.
Rogers A. E., Newberne P. M. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1971, vol. 20, p. 113—121.
Romer T. R. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1975, vol. 58, p. 500—506.
Röschenthaler R., Creppy E.-E., Lorkowski G. et al. — Forum microbiol., 1981, vol. 5, p. 262—270.
Rosenstein Y., Lafarge-Frayssinet C. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1983, vol. 70, p. 283—288.
Rosenstein Y., Lafarge-Frayssinet C., Lespinats G. et al. — Immunology, 1979, vol. 36, p. 111—117.
Ruddick J. A., Scott P. M., Harwig J. — Bull. Environm. Contam. Toxicol., 1976, vol. 15, p. 678—681.
Rukmini C., Bhat R. V. — J. Agr. Food Chem., 1978, vol. 26, p. 647—649.
Rukmini C., Prazad J. S., Rao K. — Food Cosmet. Toxicol., 1980, vol. 18, p. 267—269.
Rutqvist L., Björklung N.-E., Nult K. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1978, vol. 36, p. 920—925.
Ruzsas C., Biro-Gosztonyi M., Wöller L. et al. — Acta Biol. Acad. Sci. hung., 1979, vol. 30, p. 335—345.
Ryan N. J., Hogan G. R., Hayes A. W. et al. — Pediatrics, 1979, vol. 64, p. 71—75.
Saito M., Ecomoto M., Tatsuno T. — In: Microbial Toxins, vol. 6, New York, Acad. Press, 1971, p. 299—380.
Samples D., Hill D. W., Bridges C. H., Camp B. J. — Vet. Human. Toxicol., 1984, vol. 26, p. 21—23.
Sarasin A., Moule Y. — Eur. J. biochem., 1975, vol. 54, p. 329.
Sarasin A., Moule Y. — Exp. Cell Res., 1976, vol. 97, p. 346—358.
Sargeant K., Sheridan A., O'Kelly J. et al. — Nature, 1961, vol. 192, p. 1096—1097.
Sato N., Ueno Y., Ueno I. — J. Toxicol. Sci., 1977, vol. 2, p. 261—271.
Schappert K. T., Khachatourians G. G. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 681—684.
Schiller C. M., Yagen B. — Fed. Proc. Fedn. Am. Socs. exp. Biol., 1981, vol. 40, p. 1579.
Schmidt R. E., Panciera R. J. — J. Comp. Pathol., 1980, vol. 90, p. 339—347.
Schoch U., Lüthy J., Schlatter Ch. — Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., 1983, Bd. 74, S. 50—59.
Schoental R. — Biochem. Soc. Trans., 1980, vol 8, p. 147—150.
Schoental R. — Lancet, 1983, vol. 1, p. 537.
Schoental R. — Toxicol. Lett., 1983, vol. 16, p. 211—215.
Schroeder H. W., Cole R. J. — J. Agr. Food Chem., 1977, vol. 25, p. 204—206.
Schuh M., Glanwischnig E., Leibetseder J. — In: Proceedings 5th Int. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 118—121.
Schuller P. L., Van Egmond H. P. — Proc. Int. Symp. Mycotoxins, 1983, p. 111—129.
Scott P. M. — In: Mycotoxins, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 383—403.
Scott P. M. — IARC Sci. Publ., N 44, 1982, p. 311—316
Scott P. M. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1982, vol. 65, p. 876—883.
Scott P. M., Lau P.-J., Kanhere S. R. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1981, vol. 64, p. 1364—1371.
Scott P. M., Lawrence G. A. — J. Agr. Food Chem., 1980, vol. 28, p. 1258—1261.
Scott P. M., Lawrence G. A. — J. Agr. Food Chem., 1982, vol 30, p. 445—450.
Scott P. M., Merrien M. A., Polonsky J. — Experientia, 1976, vol. 32, p. 140—141
Scott P. M., Stoltz D. R. — Mutat. Res., 1980, vol. 78, p. 33—40.
Shank R. C. — J. Toxicol. Environm. Hlth., 1977, vol. 2, p. 1229—1244.
Shank R. C., Bhamarapravati N., Gordon J. E. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1972, vol. 10, 171—179.

Shank R. C., Bourgeois C. H., Keshamras N. — Food Cosmet. Toxicol., 1971, vol. 9, p. 501—507.
Shank R. C., Siddhichai P., Subhamani B. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1972, vol. 10, p. 181—191.
Shelton D. W., Coulombe R. A., Pereira C. B. et al. — Aquat. Toxicol., 1983, vol. 3, p. 229—238.
Shepherd E. C., Phillips T. D., Joiner G. N. et al. — J. Environm. Sci. Hlth, B, 1981, vol. 16, p. 557—573.
Shimizu T., Nakano N., Matsui T., Aibara K. — Japan J. Med. Sci. Biol., 1979, vol. 32, p. 189—198.
Shotwell O. L., Bennett G. A., Goulden M. L. et al. — Cereal Foods World, 1980, vol. 25, p. 12, 14.
Shotwell O. L., Hesseltine C. W. — Cereal Chem., 1981, vol. 58, p. 124—127.
Shotwell O. L., Hesseltine C. W., Goulden M. L. — Appl. Microbiol., 1969, vol. 17, p. 765—766.
Sekiguchi J., Shimamoto T., Yamada Y., Gaucher G. M. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 1939—1942.
Sinnhuber R. O., Lee D. J., Wales J. H. et al. — J. Natl. Cancer Inst., 1974, vol. 53, p. 1285—1288.
Sinnian D., Baskaran G., Lool L. M. et al. — Amer. J. Castroenterol., 1982, vol. 77, p. 158—161.
Siraj M. Y., Hayes A. W. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1979, vol. 48, p. 351—359.
Siraj M. Y., Hayes A. W. — Toxicology, 1980, vol. 17, p. 17—28.
Smalley E. B., Strong F. M. — In: Mycotoxin, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 200—228.
Smith R. B., Griffin J. M., Hamilton P. B. — Appl. Environm. Microbiol., 1976, vol. 31, p. 385—488.
Smith S. J., Deen K. C., Calhoun W. J., Beittenmiller H. F. — Cancer Res., 1977, vol. 37, p. 2226—2231.
Smith T. K. — Fed. Proceed., 1982, vol. 41, p. 2828—2832
Sobotka T. J., Brodie R. E., Spoid S. L. — Pharmacology, 1978, vol. 16, p. 287—294.
Sorenson W. G., Simpson J. P., Peach M. J. et al. — J. Toxicol. Environm. Hlth, 1981, vol. 7, p. 669—672.
Stack M. E., Mazzola E. P., Eppley R. M. — Tetrahedron Lett., 1979, N 52, p. 4989—4992.
Stack M. E., Mislivec P. B. — Appl. Environm. Microbiol., 1978, vol. 36, p. 552—554.
Stark A. A., Giroux C. N. — Mutat. Res., 1983, vol. 107, p. 23—32.
Steyn P. S. — Pure and Appl. Chem., 1979, vol. 52, p. 189—204.
Steyn P. S. (Eds) — The biosynthesis of Mycotoxins. A study in secondary metabolism. New York—London—Toronto, Academ Press, 1980. — 432 p.
Steyn P. S. — Pure and Appl. Chem., 1981, vol. 53, p. 891—902.
Steyn P. S., Holzapfel C. W., Ferreira N. P. — Phytochemistry, 1970, vol. 9, p. 1977—1983.
Steyn P. S., Jemmali M. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 651—662.
Steyn P. S., Rabie C. J. — Phytochemistry, 1976, vol. 15, p. 1977—1979.
Steyn M., Thiel P. G., van Schalkwyk G. C. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1978, vol. 61, p. 578—580.
Stoloff L. — J. Food Protect., 1980, vol. 43, p. 226—230.
Stoloff L. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1980, vol. 63, p. 1067—1073.
Stoloff L. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1983, vol. 66, p. 355—363.
Stora C., Dvoračkova I., Ayraud N. — J. Med., 1983, vol. 14, p. 47—54.
Støren O., Holm H., Størmer F. C. — Appl. Environm. Microbiol., 1982a, vol. 44, p. 785—789.
Størmer F. C., Hansen C. E., Pedersen J. I. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 42, p. 1051—1056.
Størmer F. C., Støren O., Hancen C. E. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 1183—1187.
Stott W. T., Sinnhuber R. O. — J. Environm. Pathol. Toxicol., 1978, vol. 2, p. 379—388.

Sauja S. K., Ram G. C., Wagle D. S. — Toxicol. Lett., 1983, vol. 18, p. 73—76.
Saneia S. K., Ram G. C., Wagle D. S. — Toxicon, 1984, vol. 22, p. 39—43.
Sutton J. C. — Canadian J. Plant Pathol., 1982, vol. 4, p. 195—209.
Susuki S., Satoh T., Yamasaki M. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1975, vol. 32, p. 116—122.
Swenson D. H. — Rev. Biochem. Toxicol. 3. New York ect., 1981, p. 155—192.
Swenson D. H., Lin J. K., Miller E. C., Miller J. A. — Cancer Res., 1977, vol. 37, p. 172—181
Swenson D. H., Miller J. A., Miller E. C. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1974, vol. 60, p. 1036—1042.
Tamm C. — In: Mycotoxins in human and animal health. — Pathotox, Publ., 1977, p. 209.
Tandon B. N., Krishnamurthy L. Koshy A., Tandon H. D. et al. — Gastroenterology, 1977, vol. 72, p. 488—494.
Tanimara T., Kihara T. — Toxicol. Lett., 1983, vol. 18, Suppl. 1, p. 113.
Tashiro F., Hirai K., Ueno Y. — Appl. Environm. Microbiol., 1979, vol. 38, p. 191—196.
Tashiro F., Nishimara N., Ueno Y. — Proc. Jap. Assoc. Micotoxicol., 1980, N 11, p. 37—40.
Temcharoen P., Thilly W. G. — J. Food Safety, 1982, vol. 4, p. 199—205.
Terao K., Kera K., Yazima T. — Virchows Arch. B. Cell. Path., 1978, vol. 27, p. 359—370.
Thacker H. L., Carlton W. W. — Food Cosmet. Toxicol., 1977, vol. 15, p. 563—574.
Thaler M. — Landwirt. Forsch., 1981, Bd 37, S. 677—681.
Thiel P. G. — Biochem. Pharmacol., 1978, vol. 27, p. 483—486.
Thurston J. R., Baetz A. L., Cheville N. F. et al. — Amer. J. Vet. Res., 1980, vol. 41, p. 1272—1276.
Tiee G., Buchanan R. L. — J. Food Sci., 1981, vol. 47, p. 153—157
Tookey H. L., Yates S. G., Ellis J. J. et al. — J. Amer. Vet. Med. Assoc., 1972, vol. 160, p. 1522—1526.
Toskulkao C., Taycharpipranai S., Glinsukon T. — Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1982, vol. 36, p. 477—491.
Trichopoulos D., Kremastinou J., Tzonou A. — In: IARC Sci. Publ., N 39, 1982, p. 317—332.
Trichothecenes — chemical, biological and toxicological aspects./Ed. Y. Ueno— Amsterdam, Elsevier, 1983. — 313 p.
Tulpule P. G., Bhat R. V., Nagarajan V. et al. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1977, vol. 54, p. 487—493.
Tulpule P. G. — J. Cancer Res. Clin. Oncol., 1981, vol. 99, p. 137—142
Tung H. T., Donaldson W. E., Hamilton P. B. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1972, vol. 22, p. 97—104.
Ueno I. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 789—802.
Ueno I., Friedman L., Stone C. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1980, vol. 52, p. 177—180.
Ueno Y. — In: Mycotoxins. Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 287—302.
Ueno Y. — In: Mycotoxins in human and animal health. Pathotox. Publ., 1977, p. 189—207.
Ueno Y. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 885—900.
Ueno Y. — IARC Sci. Publ., N 44, 1982, p. 399—403.
Ueno Y. — In: Trichothecenes—chemical, biological and toxicological aspects. Amsterdam, Elsevier, 1983, p. 125—146.
Ueno Y., Ayaki S., Sato N., Ito T. — Ann. Nutr. Alim., 1977, vol. 31, p. 935—948
Ueno Y., Ito T., Hashimoto N., Ueno I. — J. Toxicol. Sci., 1977, vol. 2, p. 349—362
Ueno Y., Ito T., Ueno I. — J. Toxicol. Sci., 1978, vol. 3, p. 11—24.
Ueno Y., Kato Y., Enomoto M. — Jap. J. Exp. Med., 1975, vol. 45, p. 525—527.
Ueno Y., Nakajima M., Sakai K. et al. — J. Biochem. (Tokyo), 1973, vol. 74, p. 283—296.
Ueno Y., Tashiro F. — J. Biochem. (Tokyo), 1981, vol. 89, p. 563—571.

Ueno Y., Tashiro F., Kawabata Y. — Jap. J. Pharmacol., 1979, vol. 29, Suppl. 63P.
Ueno Y., Tashiro F., Kobayashi T. — Food Chem. Toxicol., 1983, vol. 21, p. 167—173.
Unger P. D., Hayes A. W. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1978, vol. 47, p. 565—591.
Unger P. D., Mehendale H. M., Hayes A. W. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, vol. 41, p. 523—534.
Unger P. D., Siraj M. Y., Hayes A. W. — Food Cosmet. Toxicol., 1979, vol. 17, p. 111—116.
Uraguchi K. — In: Microbial Toxins, vol. 6, New York, Acad. Press, 1971, p. 367—380.
Uraguchi K., Saito M., Noguchi K. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1972a, v. 10, p. 193—207.
Uwaifo A. O. — Toxicology, 1984, vol. 31, p. 33—39
Van Egmond H. P. — Food Chem., 1983, vol. 11, p. 289—307.
Van Egmond H. P. — In: Developments in food analysis techniques. — 3, Elsevier, 1984, p. 99—144.
Van der Merwe K. J., Steyn P. S., Fourie L. — J. Chem. Soc. London, 1965a, vol. 87, p. 7083—7088.
Van Rensburg S. J., Altenkirk B. — In: Mycotoxins, Amsterdam, Elsevier, 1974, p. 68—96.
Van Rensburg S. J., Marasas W. F. O., Gelderblom W. C. A et al. — In: Proceedings 5th Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Vienna, 1982, p. 265—268.
Van Rensburg S. J., Van der Watt J. J., Purchase I. F. H. et al. — S. Afr. med. J., 1974, vol. 48, p. 2508a—2508d.
Velasco J. — J. Am. Oil Chem. Soc., 1972, vol. 49, p. 141—142.
Vesela D., Vesely D., Jelinek R. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 45, p. 91—93.
Vesela D., Vesely D., Kusak V. — Ceskoslovenska Hygiena, 1982, vol. 27, p. 282—284.
Vesselinovitch S. D., Michailovich N., Wogan G. N. et al. — Cancer Res., 1972, vol. 32, p. 2289—2291.
Visconti A., Bottalico A. — J. Agr. Food Chem., 1983, vol. 31, p. 1122—1123
Voigt M. N., Clarke J. D., Jain A. V. et al. — Appl. Environm. Microbiol., 1981, vol. 41, p. 919—923
Wagener R. E., Davis N. D., Diener U. L. — Appl. Environm. Microbiol., 1980, vol. 39, p. 882—887.
Wagner G., Unterreiner A. M. — Chem.-Biol. Interact., 1982, vol. 41, p. 353—360.
Wales J. H., Sinnhuber R. O. — J. Nat. Cancer Inst., 1972, vol. 48, p. 1529—1530.
Wang T. V., Cerutti P. A. — Cancer Res., 1980, vol. 40, p. 2904—2909.
Ward J. M., Sontag J. M. — J. Nat. Cancer Inst., 1975, vol. 55, p. 107—113.
Ware G. M., Thorpe C. W. — J. AOAC, 1978, vol. 61, p. 1058—1062.
Ware G. M., Thorpe C. W., Pohland A. E. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1980, vol. 63, p. 637—641.
Watson S. A., Hayes A. W. — Toxicon, 1981, vol. 19, p. 509—516
Watson S. A., Hayes A. W. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, vol. 64, p. 504—516.
Watson D. H., Lindsay D. G. — J. Sci. Food Agric., 1982, vol. 33, p. 59—67
Weaver G. A., Durtz H. J., Bates F. J. et al. — Vet. Rec., 1978, vol. 103, p. 531—535
Weaver G. A., Kurtz H. J., Mirocha C. J. et al. — Can. vet. J., 1980, vol. 21, p. 210—213.
Wehner F. C., Thiel P. G., van Rensburg S. J. et al. — Mutat. Res., 1978, vol. 58, p. 193—203.
Wei C., Campbell I. M., McLaughlin C. S. et al. — Mol. Cell. Biochem., 1974, vol. 3, p. 215—219.
Wei J.-H., Ding W. H., Wei B.-D. — Arch. Biochem. Biophys., 1984, vol. 230, p. 400—411.

Wei R. D., Lee S. S., Liu G. X. et al. — Chin. J. Physiol., 1968, vol. 20, p. 131—138.
Wei R D, Smalley E B, Strong F. M. — Appl. Microbiol., 1972, vol. 23, p. 1029.
WHO Guidelines for Establishing or Strengthening National Food Contamination Monitoring Programmes. FAO Food Control Series N 5, Geneva, WHO, 1979 — 100 p
Wiebe L A., Bieldanes L. F. — J. Food Sci., 1981, vol. 46, p. 1424—1426.
Wilson C. A., Everard D. M, Schoental R. — Toxicol. Lett, 1982, vol. 10, p. 35—40.
Wilson D M — In· Mycotoxins and other fungal related food problems; Washington D C, 1976, p. 90—109.
Wilson D. M — IARC Sci Uubl, 1982, N 44, p 349—351.
Wilson D. M, Gueldner R. C., McKinney J. K. et al. — J. Amer. Oil. Chem Soc, 1981, vol. 58, p A959—A961.
Wiseman D. W, Marth E. H — J. Food Protect., 1983, vol. 46, p. 910—913.
Wittowski M, Baltes W., Krönert W., Weber R. — Z Lebensm.-Untersuch. Forsch, 1983, Bd. 177, S. 447—453.
Wogan G N — In: Methods in cancer research, vol. 7, New York—London, Acad. Press, 1973, p. 309—344.
Wogan G. N., Edwards G. S., Newberne P. M. — Toxicol. Appl. Pharmacol, 1971, vol. 19, p. 712—720.
Wogan G N, Edwards G. S, Newberne P. M. — Cancer Res., 1971, vol. 31, p. 1936—1942.
Wogan G. N, Newberne P. M. — Cancer Res., 1967, vol. 27, p. 2370—2376
Wogan G. N., Paglialunga S., Newberne P. M. — Food Cosmet. Toxicol., 1974, vol. 12, p 681—685.
Wong J J., Hsieh D. P. H. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1976, vol. 73, p. 2241—2244.
Wong J. J., Singh R., Hsieh D. P H. — Mutat. Res., 1977, vol 44, p 447—450.
Wong Z. A., Hsieh D. P. H. — Toxicol. Appl. Pharmacol, 1980, vol. 55, p. 115—125.
Wong Z A, Wei C.-I., Rice D. W. et al. — Toxicol. Appl. Pharmacol, 1981, vol. 60, p. 387—397.
Wray B. B., Hayes A W. — Environm. Res., 1980, vol 22, p. 400—403.
Wunder W — Med. Welt., 1981, Bd. 32, S. 1548—1551.
Yamazaki M, Fujimoto H, Kawasaki T. — Chem. Pharm. Bull., 1980, vol 28, p. 245—254.
Yones H. C., Chancey J. C., Morton W. A. et al. — Mycopathologia, 1980, vol. 72, p 67—73.
Yoshizawa H, Kubo R, Ueno Y. — J. Pharm. Dyn., 1981, vol 4, p. 44.
Yoshizawa T — In: Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects. Elsevier, 1983, a, p. 60—71.
Yoshizawa T. — In: The Third Intern. Mycological Congress Abstracts Tokyo. 1983b, p. 360
Yoshizawa T., Mirocha C. J, Behrens J. C. et al. — Food Cosmet. Toxicol., 1981, vol. 19, p. 31—39.
Yoshizawa T., Sakamoto T., Ayano Y. et al. — Agr. Biol. Chem., 1982, vol. 46, p. 2613—2615.
Yoshizawa T., Sakamoto T., Okamoto K. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 130—134.
Yoshizawa T, Swanson S. P., Mirocha C. J. — Appl. Environm. Microbiol., 1980a, vol. 40, p. 901—906.
Yoshizawa T, Takeda H., Ohi T. — Agr. Biol. Chem, 1983, vol. 47, p. 2133—2135.
Young J C. — J. Environm. Sci. Hlth, 1981a, vol. B16, p. 83—111.
Young J C. — J. Environm. Sci. Hlth, 1981b, vol. B16, p. 381—393.
Yu F L, Cass M, Rokusek L. — Carcinogenesis, 1982, vol. 3, p. 1005—1009.
Zuckerman A. J., Rees K. K, Inman D., Petts V. — Nature, 1967, vol. 214, p. 814—815.
Zwicker G. M, Carlton W. W., Tuite J. — Food Cosmet. Toxicol., 1974, vol. 12, p. 491—497.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ СПИСОК

Иваницкий М. Е., Ображей А. Ф. — Ветеринария, 1984, № 7, с. 67—69
Кравченко Л. В., Левицкая А. Б., Авреньева Л. И. и др Вопр. питания, 1985, № 4, с. 8.
Левицкая А. Б., Кравченко Л. В., Тутельян В. А. Гиг. сан., 1986, № 7, с. 9.
Тутельян В. А., Левицкая А. Б., Ляшенко В. А., Седова С. А. Гиг. сан., 1985, № 4, с. 11.
Тутельян В. А., Эллер К. И., Соболев В. С. — Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания Т-2-токсина в пищевых продуктах. — М.: Минздрав СССР, 1985 г — 11 с.
Ahmed N., Singh U. S — Toxicol. Lett., 1984, vol. 21, p 305—307.
Bata A, Vanyi A., Lasztity R., Galacz J. — J. chromatography, 1984, vol. 286, p. 357—362.
Bauer J., Gareis M, Gedek B — Berliner und Münchener Tierarztliche wochenschrift, 1984, B 97, S. 279—283.
Bean G. A., Southall A. — Appl. Environm. Microbiol., 1983, vol. 46 p. 503—505.
Bezille P., Braun J.-P., Le Bars J. — Rec. Med. Vet., 1984, vol 160, p 339—347
Brookes C., Wright A., Evans P J., Mayer R. J. — Carcinogenesis, 1984, vol. 5, p 759—765.
Buchanan R. L., Lewis D. F. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 47, p. 1216—1220
Buchanan R. L., Lewis D. F. — Appl. Environm. Microbiol., 1984b, vol. 48, p. 306—310.
Chan P. K.-C., Gentry P. A. — Food Chem. Toxicol., 1984, vol. 22, p. 643—648.
Curry P. T, Reed R N, Martino R. M., Kitchin R. M — Mutat. Res., 1984, vol. 137, p 111—115.
Dierickx P. J., DeBeer J. O. — Mycopathologia, 1984, vol. 86, p. 137—141.
Dix K. M. — Carcinogenesis, 1984, vol. 5, p 385—390
Dohi Y., Watanugi F., Kitai H. et al.—J. Food Hyg. Soc. Japan, 1984, vol. 25, p. 1—9.
Eichner R D., Müllbacher A. — Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci., 1984, vol 62, p. 479—484.
Garner R. C. — New Scientist, 1984, vol. 102, p 52.
Gelderblom W. C. A, Thiel P. G., Merwe K. J. Van Der. — Biochem. Pharmacol., 1984, vol. 33, p. 1601—1603.
Gip L — In: Proc. the eighth congress of the Intern Soc Human and Animal Mycology, 1982, Palmerston North, New Zealand, 1983, p 487—488
Golinski P., Grabarkiewicz-Szczesna J., Kneblewski P. et al. — Medycyna Weterynaryjna, 1984, vol. 40, p 55—59.
Holmberg T., Pettersson H, Nilsson N G. et al.—Zentralblatt für Veterinärmed, A, 1983, vol 30, N 9, p 656—663
Irvin T. R., Wogan G. N. — Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 1984, vol 81, p 664—668
Khera K S, Arnold D L, Whalen C. et al. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 74, p. 345—356
King R R., Greenhalgh R, Blackwell B. A. — J. Agric. Food. Chem., 1984, vol 32, p 72—75.
Kumari C. K, Nusrath M, Reddy B N. — Indian Phytopath., 1984, vol. 37, N 2, p 284—287.
Lee J.-H W., Fang S-Ch., Wei R-D — Toxicology, 1984, vol 33, p 43—57
Lomax L G., Cole R J., Dorner J. W — Vet. Pathol., 1984, vol 21, p 418—424
Loury D. N., Hsieh P. H. — J. Toxicol. Environ. Health, 1984, vol. 13, p 575—587.
Loury D J, Hsieh D. P. H., Byard J. L. — J. Toxicol. Environ. Health, 1984, vol 13, p 145—159.
Madhyastha M. S., Bhat R. V. — Appl. Environm. Microbiol., 1984, vol. 48, p. 376—379.

Mayura K., Parker R., Berndt W. O., Phillips T. D. — J. Toxicol. Environ. Health, 1984, vol. 13, p. 553—561.
McMulan W. W., Wilson D. M., Mirocha C., Widstrom N. W. — Cereal Chem., 1983, vol. 60, p. 226—227.
Morrissey R. E. — Food Chem. Toxicol., 1984, vol. 22, p. 453—457.
Muench K. F., Misra R. P., Humayun M. Z. — Proceed. of the National Acad. Sci., 1983, vol. 80, p. 6—10.
Munday R. — J. Appl. Toxicol., 1984a, vol. 4, p. 176—181.
Munday R. — J. Appl. Toxicol., 1984b, vol. 4, p. 182—186
Okoye Z. S. C., Ekpenyong K. I. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 1984, vol. 78, p. 417—418.
Osborne G. B., Willis K. H. — J. Science Food Agr., 1984, vol. 35, p. 579—583.
Pohjanvirta R., Sihvonen L., Karppanen E. — Suomen Eläinlääkärilehti, 1984, vol. 90, p. 217—222.
Rahimtula A. D., Martin M. — Chem. — Biol. Interact., 1984, vol. 48, p. 207—220.
Reid G. M. — Med. Hypotheses, 1984, 14, p. 401—406.
Romer T. — Cereal Foods World, 1984, vol. 29, p. 459—462.
Scott P. M. — In: Toxigenic fungi, Kodansha Ltd., 1984, p. 182—189.
Shelton D. W., Hendricks J. D., Coulombe R. A., Bailey G. S. — J. Toxicol. and Environ. Health, 1984, vol. 13, p. 649—657.
Shepherd E. C., Phillips T. D., Irvin T. R. et al. — Xenobiotica, 1984, vol. 14, p. 741—750
Sorenson W. G., Tucker J. D., Simpson J. P. — Appl. Environ. microbiol., 1984, vol. 47, p. 1355—1357.
Terao K., Ito E., Tatsuno T. — Arch. Toxicol., 1984, vol. 55, p. 39—46
Tsuboi S., Nakagawa T., Tomita M. et al. — Cancer. Res., 1984, vol. 44, p. 1231—34.
Tuite J., Sensmeier R., Koh-Knox C., Noel R. — Plant Disease, 1984, 68, N10, p. 893—895.
Ueno Y. — Fundam. Appl. Toxicol., 1984, vol. 4, p. S124—S132.
Watson D. H. — Chem. Ind., 1984, N15, p. 536—540.
Yarom R. — Toxicol. Appl. Pharmacol., 1984, vol. 73, p. 210—217.
Zennie T. M. — J. Toxicol. Envoron. Health, 1984, vol. 13, p. 589—593.

TUTELYAN V. A., KRAVCHENKO L. V., **Mycotoxins (Medical and Biological Aspects)**/Academy of Medical Sciences of the USSR. Moscow, Meditsina, 1985. 320 p. ill.

Tutelyan V. A. — Doctor of Science, Deputy Director of the Institute of Nutrition, Head of Department of Enzymology; **Kravchenko L. V.** — Candidate of Science, Senior Scientific Worker of this Institute.

The monograph is devoted to medical and biological aspects of the problem of mycotoxins—secondary metabolites of microscopic fungi, contaminating food and feeds. Mycotoxins may cause great economic losses and present hazard to human health. Presents the modern literature data and the result of authors investigations on aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes zearalenon, moniliformin, patulin and other mycotoxins; their metabolism, molecular and cellular mechanisms of the action. Describes the clinical picture and pathogenesis of alimentary mycotoxicoses in man and animals The great attention is given to monitoring of food and feed contamination with mycotoxins. References on methods for detection, identification and quantity determination of mycotoxins are presented.

The book is intended for toxicologists, biochemists, microbiologists and specialists of food hygiene.

ОГЛАВЛЕНИЕ

CONTENTS

Виктор Александрович Тутельян
Лидия Васильевна Кравченко

МИКОТОКСИНЫ
(медицинские и биологические аспекты)

Зав. редакцией И. А. Сидоров. Редактор Е. А. Гоголина. Художественный редактор О. А. Четверикова. Оформление художника Г. А. Шипова. Технический редактор Л. А. Зубова. Корректор Л. П. Тарарина

ИБ № 3750

Сдано в набор 21.11.84. Подписано к печати 16.05.85. Т—02632. Формат бумаги 60×90¹/₁₆. Бумага тип. № 1. Гарнитура обыкн. Печать высокая. Усл. печ. л. 20,0. Усл. кр.-отт. 20,0. Уч.-изд. л. 22,27. Тираж 3 500 экз. Заказ № 509. Цена 3 р. 70 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина». 103062. Москва, Петроверигский пер., 6/8

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113105, Москва, Нагатинская ул., 1